EINE EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG

ZUR THERAPEUTISCHEN FIBRINOLYSEAKTIVITÄT

ALFONS GESSENDORFER

1984

Diss
München

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544313_0030

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
DIREKTOR: PROFESSOR DR. N. ZÖLLNER

EINE EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG ZUR THERAPEUTISCHEN FIBRINOLYSEAKTIVIERUNG

INAUGURAL - DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN
AN DER LUDWIG - MAXIMILIANS - UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

VORGELEGT VON
ALFONS GESSENDORFER
AUS
REGENSBURG

MÜNCHEN 1984

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. N. Goossens
Mitberichterstatter:	Professor Dr. N. Zöllner
Dekan:	Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 06. 12. 1984

Mein Dank gilt:

Herrn Professor Dr. med. N. Goossens für die freundliche Überlassung des Themas und die Unterstützung, die er mir und dieser Arbeit gewährte,

Herrn Professor Dr. med. F. Holle für die Ermöglichung dieser Untersuchung an Patienten der chirurgischen Poliklinik,

Herrn Dr. med. H. Rath, der diese Arbeit in jedem Stadium hilfreich betreute.

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

Theoretischer Teil

I. EINLEITUNG 1

II. DEFINITION UND BEDEUTUNG DER FIBRINOLYSE 4

III. MECHANISMUS DER FIBRINOLYSE
1. Übersicht 5
2. Eigenschaften der Faktoren und ihre Interaktionen 6

IV. REGULATION DER FIBRINOLYSE
1. Übersicht 10
2. Aktivierung
a) Physiologische Aktivierung 10
b) Therapeutisch induzierte Aktivierung 15
3. Inhibition 19

Experimenteller Teil

I. VERSUCHSPLAN UND VERSUCHSPERSONEN 21

II. METHODEN UND MATERIALIEN
1. Intermittierende, sequentielle Kompression 25
2. Heparingabe 26
3. Messung der Parameter
a) Messung der Lyseaktivität 26
b) Messung der Plasminogenkonzentration 31
c) Messung der Anti-Thrombin-III-Konzentration 34

Fortsetzung nächste Seite

Seite

III. ERGEBNISSE

1. Lyseaktivität bei Gruppe 1 37

2. Lyseaktivität bei Gruppe 2 44

3. Plasminogen- und Anti-Thrombin-III-Konzentration bei Gruppe 1 und Gruppe 2 52

IV. STATISTISCHE AUSWERTUNG 59

V. DISKUSSION 61

VI. ZUSAMMENFASSUNG 65

VII. LITERATURVERZEICHNIS 66

Theoretischer Teil

I. EINLEITUNG

Die Venenthrombose und die damit verbundene Thromboembolie stellen eine große Gefahr für bettlägerige Patienten, insbesondere nach Operationen dar.

Ausgehend von der von R. VIRCHOW aufgestellten kausalen Faktorentrias für die Thromboseentstehung wurden deshalb einige Ansätze zur Prophylaxe entwickelt.

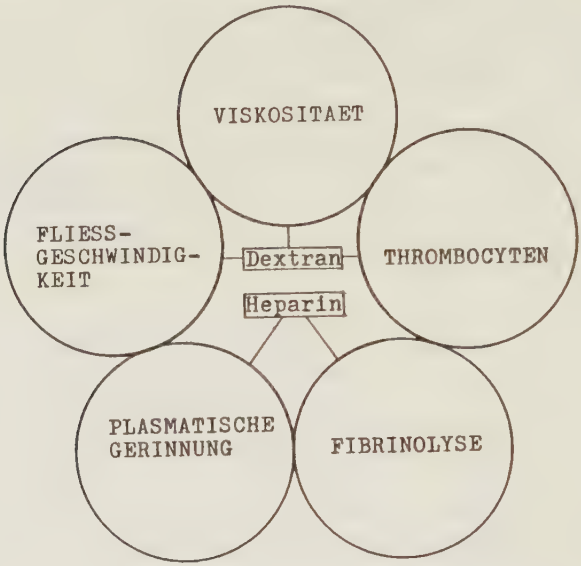
Tabelle 1:

VIRCHOW'SCHE Trias
- Gefäßwandschädigung
- veränderte Hämodynamik
- veränderte Blutzusammensetzung

Dabei sind es im wesentlichen 5 Faktoren über die man die Thrombosegefahr zu vermindern versucht (69; siehe Abb. 1).

Die Hemmung der plasmatischen Gerinnung durch Antikoagulantien zur Thromboseprophylaxe und Therapie ist eine bereits allgemein anerkannte und praktizierte Maßnahme. Durch die Anwendung anderer Medikamente wie die Infusion von Dextranlösungen versucht man die Viskosität und die Fließgeschwindigkeit des Blutes und die Thrombozytenaggregation zu beeinflussen. Die Thrombozytenaggregation und die plasmatische Gerinnung sind auch die Zielfaktoren der Therapie mit Azetylsalizylsäure. Schließlich kann durch Frühmobilisation der Patienten und mechanische Maßnahmen wie Hochlagerung und Kompression der Beine eine Erhöhung der Fließgeschwindigkeit des Blutes in den Venen erreicht werden.

Abb. 1: Möglichkeiten der Thrombosenbildung.
Modifikation des VIRCHOW-Schema nach RATH (69). 1982



Seit relativ kurzer Zeit wird die Fibrinolyseaktivierung als Mittel zur Thromboseprophylaxe diskutiert und erprobt. Dies hat seine Berechtigung, da man einen Zusammenhang zwischen der Fibrinolyseaktivität des Plasmas und der Thrombosierung der Venen vermutet. ASTRUP entwickelte in diesem Zusammenhang das Konzept der "hemostatic balance", (7) einem Gleichgewicht zwischen Lyse und Koagulation. In einer Studie von BECKER (13) konnte zwar kein ursächlicher Zusammenhang zwischen der Höhe der fibrinolytischen Aktivität und der Entstehung von Thromben nachgewiesen werden, es zeigten sich aber Auswirkungen auf ihre Wachstumsdauer und klinische Manifestation.

Bei dem Versuch, das fibrinolytische System therapeutisch zu beeinflussen, gibt es verschiedene Ansatzpunkte, worauf ich im einzelnen später noch zurückkommen werde (S.15).

Zwei dieser Ansatzpunkte sind die Therapie mit Heparingaben und die Anwendung der Beinvenenkompression.

Das Ziel dieser Arbeit war eine experimentelle Untersuchung über die Fibrinolyseaktivierung durch sequentielle intermittierende Kompression der Beinvenen oder durch "low-dose" Heparingabe oder die Kombination von beidem.

II. DEFINITION UND BEDEUTUNG DER FIBRINOLYSE

Unter Fibrinolyse versteht man die Auflösung von im Körper durch Gerinnungsvorgänge entstandenem Fibrin durch ein spezielles Enzymsystem.

Außer bei der bereits erwähnten Thrombose kommt es noch bei vielen anderen physiologischen und pathologischen Prozessen zur intra- und extravasalen Ablagerung von Fibrin. Die wichtigsten Beispiele sollen kurz umrissen werden.

Eine physiologische Bedeutung des Gleichgewichts zwischen Koagulation und Lyse scheint in der Abdichtung von Gefäßen und der Regulation der Kapillarpermeabilität zu liegen. Es gibt die Theorie, daß eine Fibrinschicht, die dem Gefäßendothel aufgelagert ist und einem ständigen An- und Abbau unterliegt, den Stoffaustausch beeinflußt (21) (COPLEY).

Außerhalb des Gefäßsystems findet man physiologischerweise besonders im Urin und anderen Körpersekreten wie Muttermilch, Speichel und Samenflüssigkeit (8) eine hohe fibrinolytische Aktivität. Wahrscheinlich wird dadurch einer Verlegung der zugehörigen Sekretions- und Abflußsysteme durch Fibringerinnsel vorgebeugt.

Auch im Gewebe und in Körperhöhlen können durch Traumatisierung oder Entzündungsvorgänge Fibringerinnsel entstehen. Hier kommt es zu einer lokalen Fibrinolysesteigerung im Zuge reparativer Vorgänge.

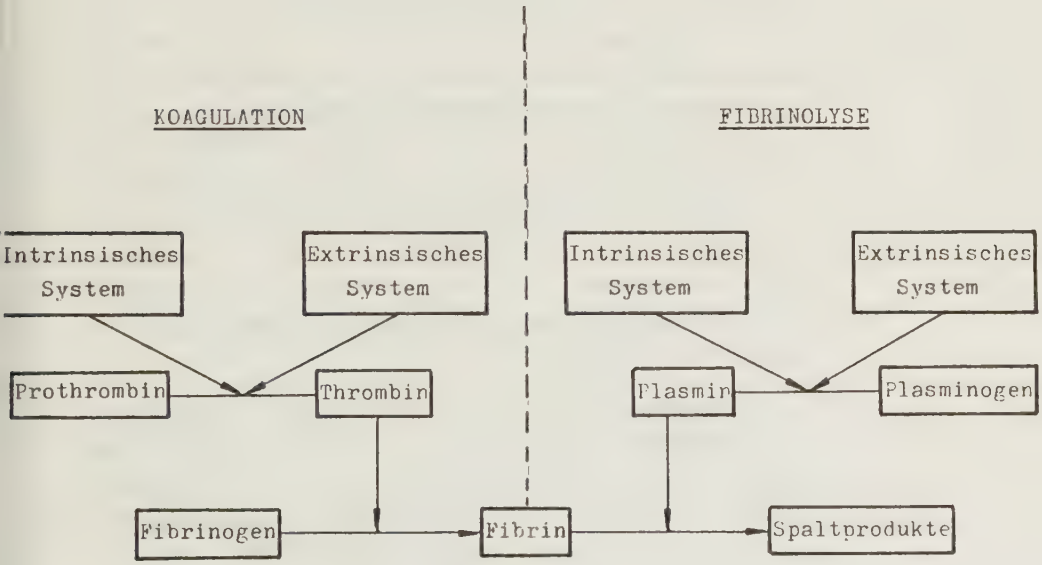
III. MECHANISMUS DER FIBRINOLYSE

1. Übersicht

Das Enzymsystem der Fibrinolyse ist nach einem ähnlichen Prinzip aufgebaut wie das der Koagulation.

Ein Proenzym (Plasminogen - Prothrombin) wird durch ein intrinsisches oder extrinsisches System zum Enzym (Plasmin - Thrombin) aktiviert, das durch seine proteolytischen Eigenschaften das Substrat (Fibrin - Fibrinogen) spaltet. (siehe Abb. 2)

Abb. 2: Übersicht über Fibrinolyse und Gerinnung (nach KOLLER, 49)



2. Eigenschaften der Faktoren und ihre Interaktionen

Plasminogen

Plasminogen ist ein einkettiges ß-Globulin mit einem Molekulargewicht von 83000 - 84000. Es tritt im Plasma mit einer Konzentration von 10 - 15 mg/dl auf. Erniedrigte Konzentration findet man bei Kindern und bei Patienten mit fortgeschrittener Lebercirrhose und dem DIC-Syndrom (DIC = disseminated intravascular coagulation), sowie bei thrombolytischer Therapie. Erhöhte Plasminogenspiegel können durch Infektionen, Traumen, Operationen und Myokardinfarkte bedingt sein (54).

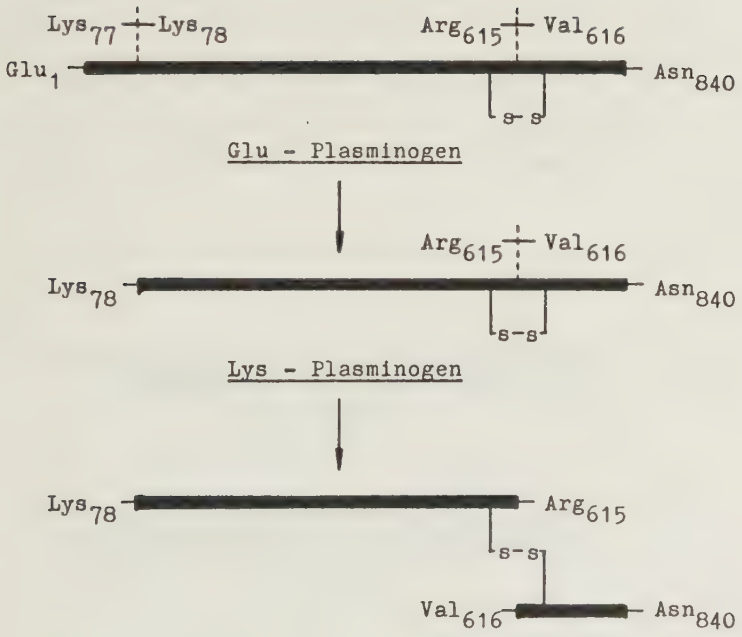
Über den Bildungsort besteht noch Unklarheit. Man diskutiert verschiedene Zellsysteme wie Hepatozyten, Eosinophile im Knochenmark und Nierenzellen (40, 58).

Durch neuere chromatographische Untersuchungen mit L-Lysin substituierten Sepharose-Säulen (17, 23) gelang es, mindestens zwei verschiedene Plasminogene im Plasma zu unterscheiden. Eine sogenannte Glu - Plg (Glutamin - Plaminogen)-Form mit Glutamin an NH_2-Ende und eine Lys-(Lysin) Plg-Form. Lys-Plg entsteht aus Glu-Plg durch Abspaltung einer Peptidsequenz in mehreren Schritten. Diese Reaktion wurde an gereinigten, mit Urokinase (Uk) aktivierten Systemen untersucht. Nach WIMAN und WALLEN (87) sind sowohl Urokinase als auch Plasmin dazu fähig, diese Spaltung zu katalysieren. Andere Autoren schreiben nur Plasmin diese Eigenschaft zu (18, 72).

Die Bedeutung dieses ersten Schrittes der Plg-Aktivierung scheint darin zu liegen, daß Lys-Plg eine größere Affinität zu Fibrin besitzt als Glu-Plg (62, 79, 82). Dies spielt bei der Lyse von Thromben eine große Rolle. Außerdem wird Lys-Plg wesentlich schneller durch Uk aktiviert als Glu-Plg (84).

In einem zweiten durch Aktivator (hier Uk) katalysierten Schritt wird Plg an der Bindungsstelle Arg_{615}-Val gespalten (56). Dadurch entsteht das 2-kettige proteolytisch wirksame Plasmin (siehe Abb. 3).

Abbildung 3: Graphische Darstellung der Plasminogenaktivierung
(nach MANNUCCI, P.M., 56)



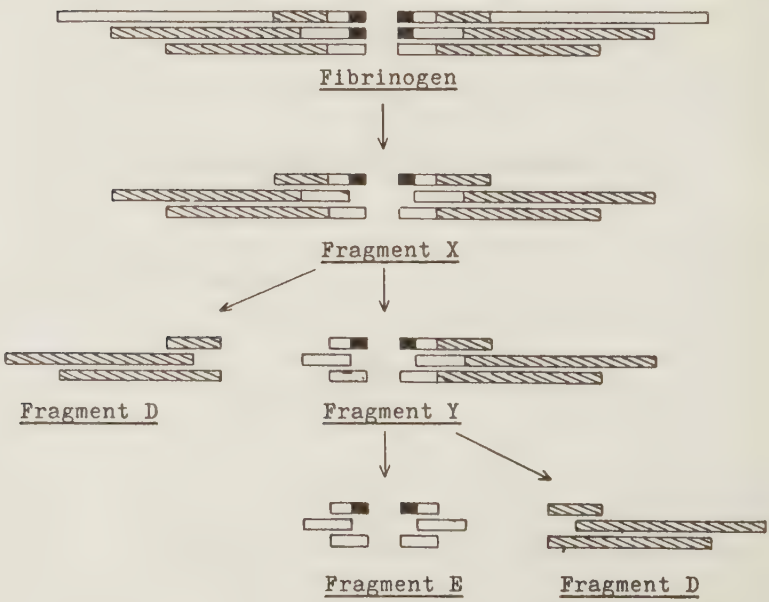
Plasmin

Das aus Plasminogen entstandene Plasmin hat ein Massengewicht von 107000 - 125000, abhängig von dem vorausgehenden Aktivierungsmechanismus (76).
Durch seine protelytische Aktivität kann es außer Fibrin und Fibrinogen die Gerinnungsfaktoren V, III und Prothrombin und andere Proteine spalten (46).

Fibrinogen und Fibrin

Fibrin entsteht bei der Blutgerinnung durch Polymerisation von Fibrinogen (Massengewicht ca. 344000), dessen Fibrinopeptide A und B abgespalten wurden. In einem weiteren Schritt bilden sich zur Stabilisierung in einer Faktor XIII abhängigen Reaktion Über-Kreuz-Verbindungen zwischen den Fibrinuntereinheiten aus. Sowohl Fibrinogen als auch nicht stabilisiertes Fibrin werden durch Plasmin in die Fragmente X, Y, D und E gespalten (75; siehe Abb. 4).

Abb. 4: Fibrinogenabbau (modifiziert nach SHERRY, S., 75)



Diese Fragmente besitzen eine gerinnungshemmende Wirkung und werden unter der Bezeichnung Antithrombin IV zusammengefaßt (75). Im Vergleich zur Lyse von Fibrinogen wird der Abbau von stabilisiertem Fibrin durch Über-Kreuz-Verbindungen zwischen α-Ketten gehemmt (31). Auch hier entstehen gerinnungshemmende Fragmente, die sich jedoch von den vorher genannten unterscheiden (75).

IV. REGULATION DER FIBRINOLYSE

1. Übersicht

Das Enzymsystem der Fibrinolyse wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflußt, wobei die physiologische Steuerung durch ineinander greifende Aktivator- und Inhibitorsysteme erfolgt. Nur durch dieses fein abgestimmte Gleichgewicht ist es möglich, daß das fibrinolytische System auf veränderte Situationen modifiziert regiert.
Ein Beispiel hierfür ist die Lyse von Thromben. So findet man unter physiologischen Bedingungen im Plasma einen Inhibitorspiegel, der spontan entstandenes Plasmin bindet und eine Andauung von lebenswichtigen Plasmaproteinen verhindert. Da aber sowohl die Aktivatoren (29, 80) als auch Lys-Plg (siehe S. 6) an Fibrin adsorbiert und in den Thrombus eingebaut werden, scheint dort eine Aktivierung von Plasminogen trotz hoher Inhibitorspiegel im Plasma möglich zu sein (82).

2. Aktivierung

a) Physiologische Aktivierung

Die Fibrinolyse wird physiologisch durch Substanzen, die die Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin fördern, aktiviert. Dabei kann man zwei Gruppen, nämlich Gewebsaktivatoren und Blutaktivatoren voneinander trennen.

Gewebsaktivatoren

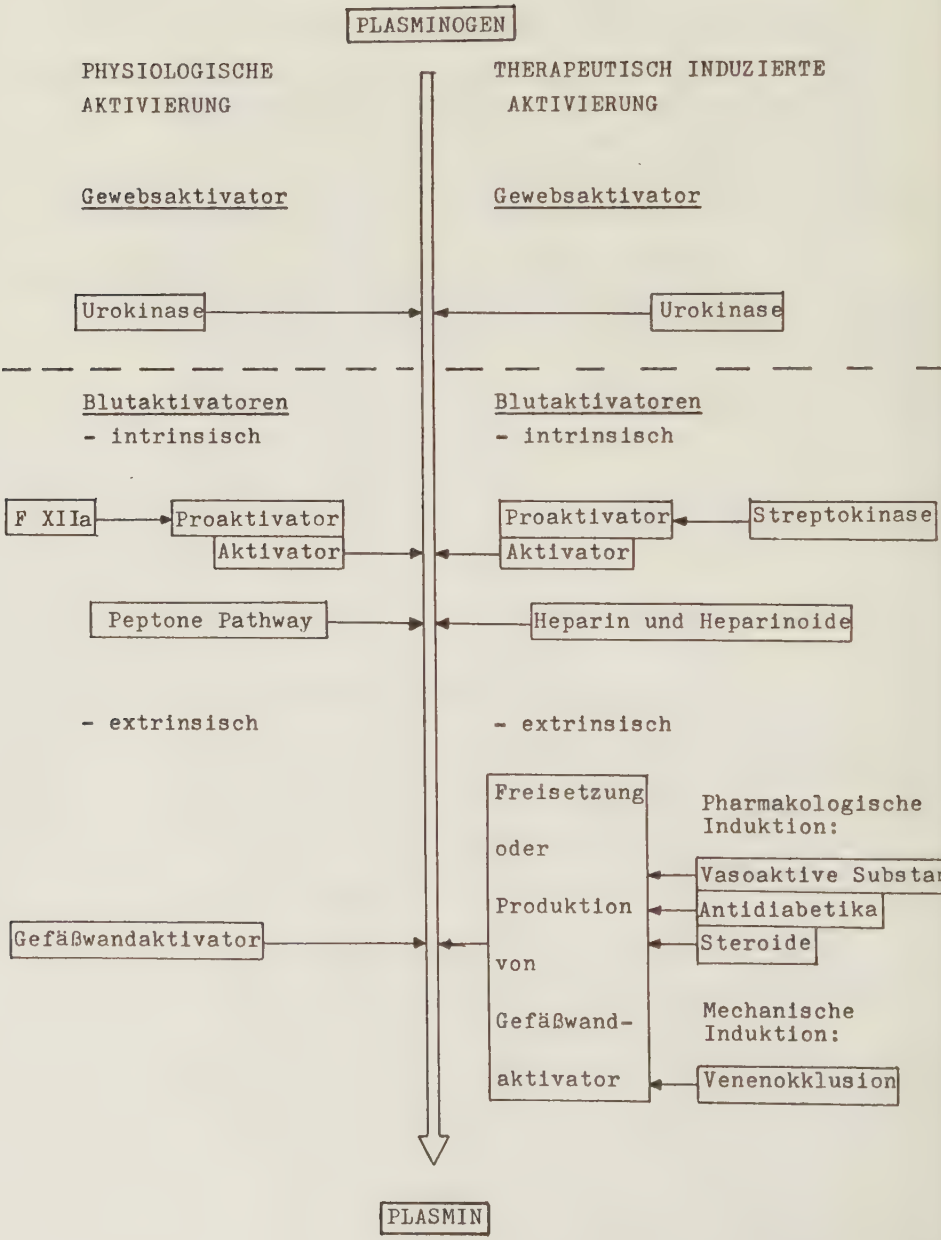
Die Gruppe der Gewebsaktivatoren besteht aus Proteinen mit unterschiedlichen Bildungsorten und Eigenschaften.

In Lunge,Herz, Nieren, Uterus, Prostata und Nebennieren, jedoch nicht in der Leber, findet sich eine verhältnismäßig hohe Konzentration eines stabilen Aktiva-

tors mit einem Massengewicht von ca. 40 000 (8, 56) Dieser Gewebsaktivator wirkt wie Uk direkt auf Plg und besitzt auch ähnlich immunologische Eigenschaften (5). Er wird unter physiologischen Bedingungen nicht an das Plasma abgegeben und spielt vermutlich eine Rolle bei den reparativen Vorgängen der Wundheilung (9).

Andere Gewebsaktivatoren werden an verschiedene Körperflüssigkeiten und Sekrete wie Urin, Muttermilch, Samenflüssigkeit und Speichel abgegeben.
Der wichtigste Vertreter davon ist die Uk im Urin, ein einkettiges ß-Globulin, von dem 3 Formen mit Massengewichten zwischen 22 000 und 54 000 bekannt sind (11, 24). Seine physiologische und biochemische Bedeutung wurde bereits erläutert (siehe S.4 und S.6).

Abbildung 5: Faktoren der Plasminogenaktivierung



Blutaktivatoren

Die Aktivierung der Fibrinolyse im Plasma kann über ein intrinsisches und ein extrinsisches System erfolgen.

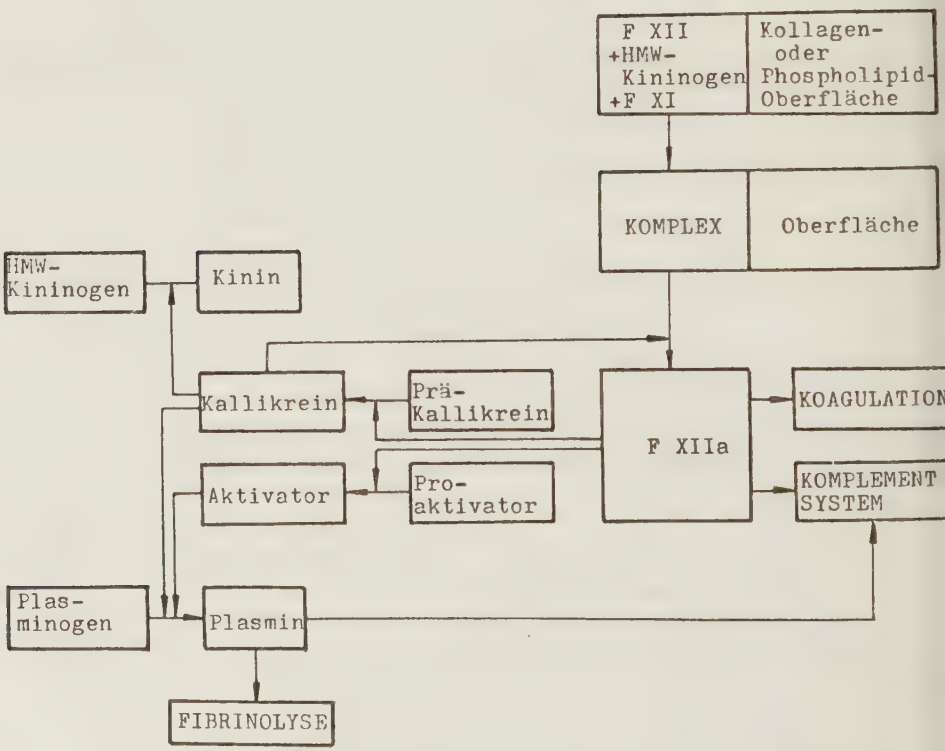
Der extrinsische Aktivator ist ein sehr labiles Enzym mit einem Massengewicht von ca. 65 000 (56) und wird in den Gefäßwänden gebildet. Unter diesem Aspekt gesehen, kann er zu den Gewebsaktivatoren gezählt werden. Jedoch wird er in das Plasma abgegeben und unterscheidet sich von Uk sowohl in seinen immunologischen, als auch enzymatischen Eigenschaften (56). Über die genaue Lokalisation seiner Bildung gibt es unterschiedliche Angaben. Hohe Aktivatorkonzentrationen wurden histochemisch sowohl in den Vasa vasorum der Adventitia großer Venen (67) als auch in der Intima von Venen gefunden. Arterienwände enthalten dagegen keine hohen Aktivatorkonzentrationen (10). Verminderte Aktivatorkonzentrationen zeigen sich in einem Zeitraum von einigen Tagen nach schweren Operationen (1) und bei varikös veränderten Venen (88), während eine Erhöhung bei körperlicher Anstrengung, Schock (27), Anoxie (53) und der Gabe von bestimmten pharmakologischen Substanzen (51, 52) beobachtet wurde.

Die physiologische Abgabe von Gefäßwandaktivator scheint für die spontane Fibrinolyseaktivität verantwortlich zu sein (28), die eine circadiane Schwankung mit einem Tiefstand am Morgen und einem Gipfel am Nachmittag zeigt (38, 47).
Über den genauen Aktivierungsmechanismus durch Gefäßwandaktivator gibt es im Gegensatz zur Aktivierung durch Uk und Streptokinase noch keine Klarheit.

Ein zweites im Plasma wirkendes Aktivierungssystem, das intrinsische System, fördert die Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin über die aktive Form des Faktors XII (= Hagemanfaktor), nämlich F XIIa.

F XII, ein in der Leber synthetisierter Gerinnungsfaktor mit einem Massengewicht von ca. 80 000, lagert sich zusammen mit H. M. W. (High-Molecular-Weight) Kininogen und Faktor XI an durch Gewebsverletzung freigewordenes Kollagen oder an Phospholipide aus Thrombozyten an (63). Dabei entsteht in einem Komplex F XII a. Diese Reaktion verläuft in Gegenwart von Kallikrein beschleunigt.
F XII a spielt eine wichtige Rolle in den "Schutzsystemen" Blutgerinnung, Fibrinolyse, Kininsystem und Komplementaktivierung (siehe Abb. 6).

Abb. 6: Interaktionen des Hagemanfaktors (F XII)
(modifiziert nach STORMORKEN, 77)



F XII a beschleunigt die Umwandlung von Präkallikrein zu Kallikrein. Dieses wiederum erhöht durch positive Rückkoppelung die F XII-Bildungsrate. Außerdem aktiviert Kallikrein die Umwandlung von Kininogen zu Kinin und Plasminogen zu Plasmin (63). STORMORKEN (77) beschreibt außer dem Präkallikrein-Kallikrein-System ein weiteres F XII abhängiges Proaktivator-Aktivator-System.

Die physiologische Bedeutung der Plasminogenaktivierung durch F XII a ist weitgehend ungeklärt. Patienten mit angeborenem Mangel an F XII, Präkallikrein oder HMW-Kininogen zeigten keine klinischen Auffälligkeiten, obwohl eine Aktivierung über dieses System nicht möglich war (56).

Ein anderes intrinsisches System, der Peptone-Pathway, scheint von geringer physiologischer Bedeutung zu sein (56). Es wird durch verschiedene organische Säuren, wie Fettsäuren, alkylierte Sulfate, organische Phosphate und Sulfatpolysaccharide aktiviert (22).

b) Therapeutisch induzierte Aktivierung

Die Plasminogenaktivierung zu therapeutischen Zwecken ist durch verschiedenartige Reize möglich. Diese können je nach ihrem Ansatzpunkt dem jeweiligen physiologischen Aktivatorsystem zugeordnet werden (siehe Abb. 6).

Aktivierung durch Urokinase

Über die Eigenschaften und den Aktivierungsmechanismus von Uk wurde bereits oben berichtet (siehe S. 6 und S. 11). Sie wird wie Streptokinase zur Auflösung von Thromben verwendet. Der Vorteil gegenüber Streptokinase ist, daß Uk als körpereigene Substanz keine Antikörperreaktionen hervorruft. Da sie aber nur mit großem Aufwand aus menschlichem Urin gewonnen werden konnte, war ihre Herstellung sehr kostspielig.
Erst seit relativ kurzer Zeit ist eine billigere Produktion auch in größeren Mengen durch gen-veränderte Bakterien möglich.

Induziertes intrinsisches System

Streptokinase

Seit den 40er Jahren kennt man einen von Streptokokkenstämmen produzierten Plasminogenaktivator, der später als Streptokinase (Sk) bezeichnet wurde. Sk ist ein einkettiges Protein mit einem Massengewicht von ca. 47 000. Anders als Uk kann Sk Plasminogen nicht direkt, sondern nur über einen Proaktivator aktivieren. Der im Plasma hauptsächlich wirksame Proaktivator ist mit Plasminogen identisch (12). Plg bildet zusammen mit Sk äquimolare Komplexe (12, 71, 78). Jedoch nur mit humanem Plasminogen und dem von einigen Säugetierspezies (12) entstehen Komplexe, die Plasminogen aktivieren. Dazu ist eine Konformationsänderung des Plasminogens im Komplex notwendig (12). Außerdem wird das im Komplex aktivierte Plasminogen relativ schnell in einer intramolekular ablaufenden Reaktion in Plasmin umgewandelt (17, 19). Aber auch Sk unterliegt einem fortschreitenden Abbau in verschieden große Bruchteile, die jedoch nicht frei, sondern nur im Komplex gebunden vorliegen (19). Das stabilste Sk-Bruchteil mit einem Massengewicht von ca. 37 000 besitzt ähnliche funktionelle Eigenschaften wie natives Sk (19). Sowohl die Zwischenstufen als auch die Endform des Aktivatorkomplexes katalysieren die Reaktion von Plasminogen in Plasmin in ähnlicher Weise wie Uk.

Heparin

Heparin ist ein Polysaccharidschwefelsäureester mit einem Massengewicht von 12 000 - 20 000, das physiologischerweise in Lunge und Leber in höchster Konzentration vorliegt, und im Bindegewebe, hier bevorzugt in den Gefäßwänden, produziert wird (35). Im Plasma erscheint es nur in der Konzentration von ca. 0,5 mg % (25). Bei dieser geringen Konzentration ist der seit langem therapeutisch genutzte antikoagulatorische Effekt des Heparins ohne klinisch meßbare Auswirkung auf das Gerinnungsystem. Dagegen konnte

MATIS (57) bei ähnlich geringer Heparinkonzentration in vitro eine Fibrinolysesteigerung messen. Dies läßt vermuten, daß Heparin physiologischerweise eher die Bedeutung eines Fibrinolyseaktivators als eines Antikoagulans zukommen könnte (36). Zahlreiche Versuche bewiesen, daß eine Fibrinolyseaktivierung auch in vivo stattfindet (33, 35).

Dabei zeigte sich bei verschiedenen Heparinen und Heparinoiden (Pentosulfatsaccharide) eine verschieden starke Wirkung auf das fibrinolytische System, unabhängig von ihrer antikoagulatorischen Wirkung (37). Es gibt Heparinoide, die im Vergleich zu Heparin, keine oder nur eine sehr geringe Hemmung der Gerinnung bewirken, aber die Fibrinolyse aktivieren (37). Über den Aktivierungsmechanismus herrscht noch Unklarheit. Während MARKWARDT und KLÖCKLING (55) im Tierexperiment eine erhöhte Abgabe von Gewebsaktivator fanden, also den Aktivierungsmechanismus dem extrinsischen System zuordnen, vermutet HALSE (35) eine Aktivierung zusammen mit einem plasmatischen Kofaktor. DAVIDSON und WALKER ordnen die Aktivierung durch Heparin dem intrinsischen System zu (22).

Heparin wird in verhältnismäßig geringen Dosen (3 x 5000 I.E.) zur Thromboseprophylaxe verwendet. Dabei könnte möglicherweise Fibrinolyseaktivierung von entscheidender Bedeutung sein.

Induziertes extrinsisches System

Pharmakologische Aktivierung

Man kennt Pharmaka aus verschiedenen chemischen Gruppen (Zusammenstellung siehe Abb. 5), die das extrinsische System durch Induktion einer vermehrten Bildung oder einer vermehrten Abgabe von Gefäßwandaktivator aktivieren. Dazu gehören vasoaktive Substanzen, wie Azetylcholin (51), Serotonin (52), Histamin (51), Epinephrin (51) und Nikotinsäure (33, 85).

Eine zweite Gruppe bilden die Antidiabetika mit den Untergruppen Sulfonylharnstoffderivate (30) und Biguanide (41). Bei Gabe eines Biguanids (Phenformin) in Kombination mit einem Steroid (Äthyloestrenol) wurde sowohl ein Anstieg des Gefäßwandaktivators in Venenwänden (65) als auch im Plasma (44) gemessen.

Andere Möglichkeiten der Aktivierung

Die Fibrinolyseaktivierung durch Venenverschluß ist seit langem bekannt und konnte durch viele Studien bestätigt werden (3, 20, 42, 64, 68, 75). Dabei ist der Grad der Aktivierung von zahlreichen Faktoren abhängig.
Die durch Venenverschluß hervorgerufene Aktivität in den Armen ist höher als in den Beinen (64) und nimmt mit dem Alter signifikant zu (75), jedoch bei Männern in einem geringeren Maße als bei Frauen (75). In den Beinen dagegen bleibt sie bis zum Alter von ca. 50 Jahren konstant und nimmt bei über 65-jährigen Personen ab (75). Eine allgemein erhöhte fibrinolytische Antwort wurde bei körperlichem Training beobachtet (74).

Über die unmittelbare Ursache der erhöhten Fibrinolyseaktivität gibt es unterschiedliche Ansichten. Während IATRIOS, IATRIOS und FERGUSON einen bei Venenverschluß auftretenden Anstieg der Konzentration des Faktors XII dafür verantwortlich machen (43), verneinen NILSON und ROBERTSON (64) dies, und sehen wie viele andere Autoren in einer verstärkten Freisetzung von Gefäßwandaktivator die Ursache.

Der Zusammenhang zwischen Venenverschluß und Freisetzung von Gefäßwandaktivator ist allerdings ebenfalls ungeklärt. Die Beobachtung, daß lokale Ischämie eine Fibrinolysesteigerung hervorruft (53), könnte dabei eine Rolle spielen

Der Effekt der Fibrinolysesteigerung durch Venenverschluß wird seit einigen Jahren bei der intermittierenden Kompression von Venen ausgenutzt und untersucht (2, 48).

3. Inhibition

Dem fibrinolytischen System stehen zahlreiche Inhibitoren gegenüber, die eine wichtige Rolle bei seiner Regulation spielen. Man findet sie im Plasma, den Thrombozyten und einigen anderen Geweben (16, 26). Die bisher eindeutig identifizierten Plasma-Protease-Inhibitoren sind in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2: Plasma-Protease-Inhibitoren (modifiziert nach MÜLLERTZ, 62)

Name	MG	Konzentrationsbereich umol/l
α_2-Makroglobulin$^{x, y}$	725 000	2,0 - 5,8
Inter-Inhibitor	160 000	1,2 - 4,4
C_1-Inaktivator^{x}	105 000	1,4 - 3,3
Antithrombin III$^{x, y}$	62 000	3,5 - 6,3
α_1-Antitrypsin$^{x, y}$	56 000	35,0 - 71,0
Primary Plasmin Inhibitor^{x}= α_2-Plasmin Inhibitor	60 000	1,5 - 1,8

Index "x": Antiplasmine
Index "y": Antiaktivatoren

Antiaktivatoren

Über die Zahl und Identität der Antiaktivatoren gibt es noch keine eindeutigen Ergebnisse. Außer α_2-Makroglobulin, Antithrombin III und α_1-Antitrypsin, die sowohl Antiaktivatoren als auch Antiplasmine sind, wurden verschiedene eigenständige Antiaktivatoren gefunden (4, 39, 81).

Antiplasmine

Zu den Antiplasminen zählen die in Tabelle 2 mit Index "x" gekennzeichneten Plasma-Protease-Inhibitoren. Von großer

physiologischer Bedeutung sind hierbei α_2-Makroglobulin, α_1-Antitrypsin und ein von WIMAN und COLLEN (82) beschriebener schnell wirkender Inhititor, der sog. "Primary Plasmin Inhibitor", der mit dem von MOROI und AOKI (59) charakterisierten α_2-Antiplasmin identisch ist. Er bildet ebenso wie α_2-Makroglobulin mit Plasmin Komplexe. Außerdem inhibiert er die Bindung von Lys-Plg an Fibrin (60), was eine bedeutende Rolle bei der Thrombolyse spielt (siehe S.10). Auch α_1-Antitrypsin bildet mit Plasmin Komplexe, die allerdings irreversibel sind. Seine Affinität zu Plasmin ist verglichen mit der von α_2-Antiplasmin gering.

Einem weiteren Inhibitor, Antithrombin III, wird eine geringere physiologische Bedeutung bei der Regulation der Fibrinolyse beigemessen als den vorher genannten Inhibitoren. Seine Inhibitorfunktion, sowohl bei Koagulation als auch bei Fibrinolyse, wird durch die Anwesenheit von Heparin wesentlich gesteigert.

Über den Inhibierungsmechanismus existieren unterschiedliche Theorien, von denen die wichtigsten in Tabelle 3 zusammengefaßt sind.

Tabelle 3: Mechanismus der Inhibition von Serin-Proteasen (nach MÜLLERTZ, 62)

1. Die reaktive Peptidbindung im Inhibitor wird teilweise hydrolysiert und die Konformation ändert sich. Ein Acyl-Enzym-(Inhibitor-Enzym)-Komplex entsteht. Die aktive Stelle ist blockiert.

2. Durch sekundäre, nicht kovalente, räumliche Interaktionen ändert sich die Konformation. Die aktive Stelle ist verdeckt.

3. Die reaktive Peptidbindung des Inhibitors wird hydrolisiert und die Konformation ändert sich. Durch sterisch kontrollierte räumliche Interaktionen bleibt die aktive Stelle frei, aber es entsteht ein sterisches Hindernis für den Zutritt großer Moleküle.

Experimenteller Teil

I. VERSUCHSPLAN UND VERSUCHSPERSONEN

Das Ziel der Arbeit war eine experimentelle Untersuchung über die Fibrinolyseaktivierung durch sequentielle intermittierende Kompression der Beinvenen durch "low - dose" Heparingabe oder die Kombination von beidem. Es wurde Wert darauf gelegt, die Kompression über eine auch im klinischen Alltag vertretbare Zeitdauer von nur 15 Minuten durchzuführen, und als Heparindosis die bereits als Thromboseprophylaxe übliche Gabe von 5000 I.E. Heparin zu verwenden.

Die Kompression, verbunden mit Blutabnahmen davor und danach, wurde bei der Gruppe 1 der Versuchspersonen an 3 verschiedenen, nicht unbedingt aufeinanderfolgenden Tagen zwischen 11 Uhr und 13 Uhr durchgeführt. Der genaue Zeitpunkt des Beginns der Kompression war bei jedem Probanden an den 3 Tagen möglichst gleich, um den Einfluß der intraindividuellen Schwankungen, bedingt durch das physiologische Tagesprofil der Fibrinolyseaktivität (38) so gering wie möglich zu halten.

Bei der Gruppe 2 der Probanden wurde an 3, nicht unbedingt aufeinanderfolgenden Tagen um 8 Uhr morgens Blut abgenommen, und dann 5000 I.E. Heparin s.c. gegeben. Nach 4 Stunden wurde nochmals Blut entnommen und die Kompression wie bei Gruppe 1 durchgeführt.

Von jeder Blutprobe wurde die Lyseaktivität mit der Standart-Fibrinpapier-Lysebestimmung nach GOOSSENS (32) ermittelt. Zur Interpretation dieser Lyseaktivitäten, speziell bei einer etwaigen Erhöhung durch Kompression oder Heparingabe, bestimmten wir außerdem die Lyseaktivität der streptokinaseaktivierten Plasmen und ihren Plasminogen- und Antithrombin III-Gehalt (= AT-III-Gehalt).

Beide Gruppen setzten sich aus je 11 Versuchspersonen zusammen.Es handelte sich um Patienten der Chirurgischen Universitätspoliklinik, die sich nach einer Aufklärung zu dem Versuch bereiterklärten.
Die Gruppen wurden nicht randomisiert, da nur Veränderungen der Lyseaktivitäten innerhalb der Gruppen verglichen werden sollten.
Vorbedingung für eine Teilnahme an dem Versuch waren ein guter Allgemeinzustand und ein zeitlicher Abstand von mindestens 5 Tagen nach einem Trauma oder einer Operation, um deren Auswirkungen auf die Fibrinolyseaktivität möglichst gering zu halten.
Die genaue Zusammensetzung der beiden Probandengruppen ist der Tabelle 4 zu entnehmen.

Tabelle 4 : Daten der Versuchspersonen, Gruppe 1

Pat. Nr.	Alter in Jahren	Geschlecht X = weibl. Y = männl.	Grunderkrankung	Zeitraum zw. Operation u. Versuch in Tagen	Andere Erkrankungen	Auffällige Laborwerte
1	77	X	Schlüsselbein-fraktur	5	Varizen	Eiweiß: 5,9 g/dl
2	32	Y	Weber-C-Fraktur	8	Alkoholabusus	GGT: 122 /l Ges. Bili.: 1,3mg%
3	21	Y	Beckenfraktur	-	-	-
4	26	X	Beckenfraktur	-	-	-
5	66	Y	Tibiakopf-fraktur	22	Asthma Bronchiale Lungenemphysem	-
6	49	Y	Tibiakopf-fraktur	8	Laryngektomie wegen Larynx-Ca, Mai '81	-
7	22	Y	Offene Patella-fraktur	10	-	-
8	26	Y	Femurfraktur	7	-	-
9	35	Y	Beckenfraktur	-	-	-
10	42	Y	Schenkelhals-fraktur	7	Alkoholabusus Hepatopathie	GGT: 222 /l Eiweiß: 4,6 g/dl Ges.Bili.: 1,3mg%
11	60	X	Unterschenkel-fraktur	17	Alkoholabusus Entzugssyndrom Harnwegsinfekt	GGT: 72 /l

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung

Tabelle 4 : Daten der Versuchspersonen, Gruppe 2

Pat. Nr.	Alter in Jahren	Geschlecht X = weibl. Y = männl.	Grunderkrankung	Zeitraum zw. Operation u. Versuch in Tagen	Andere Erkrankungen	Auffällige Laborwerte
12	53	X	Tibiaschaft-fraktur	7	Hypotonie Varizen	Ges.Bili.: 1.1mg%
13	57	Y	Schenkelhals-fraktur	12	-	GGT: 163 /l Quick: 85%
14	51	Y	Osteomyelitis nach Schenkelhalsfrakt.	-	Hepatopathie Alkoholabusus Hypertonie	GGT: 168 /l GOT: 36 /l Alk.Phos.: 278 U/l Ges. Bili.: 1,1mg%
15	79	X	Schenkelhalsfrakt.	16	Diabetes mellitus Insulinbehandelt	Eiweiß: 5,9
16	21	Y	Osteomyelitis	-	-	-
17	39	Y	Tibiaschaftfrakt.	10	Alkoholabusus	GGT: 176 /l GOT: 35 /l
18	36	Y	Humerusfraktur	8	-	-
19	20	Y	Schenkelschaftfrakt.	5	-	-
20	70	Y	Schenkelhalsfrakt.	7	Koronare Gefäßerkr.	-
21	49	Y	Innenbandriß	22	-	-
22	47	Y	LWK-Impressionsfr.	-	-	-

II. METHODEN UND MATERIALIEN

1. Intermittierende, sequentielle Kompression

Verwendete Geräte und Materialien

- T.E.D.-Kompressionssystem (Fa. Kendall, Neustadt), bestehend aus
  - Steuergerät
  - Kompressionsmanschetten, oberschenkellang
  - Druckluftschläuche
  - Bereitschaftswagen für Gerät und Zubehör
- Stauschlauch
- Kanülen

Prinzip und Durchführung

Bei der intermittierenden, sequentiellen Kompression wird über Manschetten das Venensystem der Beine komprimiert, um die Fließgeschwindigkeit des Blutes zu erhöhen und eine Ausschüttung von Gefäßwandaktivator zu induzieren. Die von uns verwendeten Manschetten reichen von den Knöcheln bis zum proximalen Oberschenkel. Über den Knien besitzen sie eine Aussparung um die Beweglichkeit des Beines zu erhalten. Die 3 Kammern je Manschette (2 am Unterschenkel, 1 am Oberschenkel) werden über Druckluftschläuche durch ein Steuergerät nacheinander, von distal nach proximal, auf einen vorwählbaren Druck aufgepumpt, und dadurch der Venenpool des Beines entleert. Daraufhin wird die Luft wieder abgelassen, damit sich das Venensystem bis zum nächsten Zyklus wieder füllen kann.

Wir arbeiten mit einem Kompressionsdruck von 90 mm Hg. Bei diesem Druck konnte in einer Studie über die Auswirkung der Kompression auf die Fließgeschwindigkeit des Venenblutes, mit einem Gerät der selben Baureihe, eine Abnahme der Thrombosehäufigkeit gegenüber einer Kontrollgruppe nachgewiesen werden (61).

Die Zeit bis zum maximalen Druckanstieg in der Manschette beträgt etwa 12 Sekunden und die Pause nach der Kompression bis zum nächsten Zyklus 60 Sekunden. Daraus ergibt sich bei einer 15 minütigen Anwendungszeit eine durchschnittliche Anzahl von 12,5 Kompressionszyklen.
Es wurde besonders darauf geachtet, daß die Manschetten vor und zwischen den Kompressionszyklen die Beine ohne Druck, aber auch ohne Spiel, umschlossen, um einerseits eine ständige Kompression, andererseits einen verzögerten, ungleichmäßigen Druckanstieg zu verhindern.
Vor und nach der Kompressionszeit wurden durch Punktion einer gestauten Kubitalvene etwa 18 ml Blut entnommen und zur Vermeidung der Gerinnung mit 2 ml Na-Citrat vermischt. Die Stauung erfolgte mit einer Staubinde ca. 10 cm oberhalb des Ellbogengelenks für möglichst kurze Zeit, um eine ungewollte Induktion der Abgabe von Gefäßwandaktivator zu vermeiden.
Das entnommene Blut wurde sofort 15 Minuten bei 3000 rpm, das entspricht etwa 2000 g Beschleunigung, zentrifugiert, und das überstehende Plasma, portioniert für die verschiedenen Bestimmungen, in Kunststoffröhrchen abpipettiert. Bei sofortigem Tiefgefrieren auf minus 20° C konnten die Proben maximal 6 Monate im Tiefgefrierfach aufbewahrt werden.

2. Heparingabe

Bei den Probanden der Gruppe 2 wurde der Kompression eine Gabe von 5000 I.E. Heparin s.c. vorgeschaltet. Die vor- und nachherigen Blutentnahmen erfolgten in gleicher Weise wie oben beschrieben.

3. Messung der Parameter

a) Messung der Lyseaktivität

Verwendete Geräte und Materialien

- Standard-Fibrin-Papier MN 260 N/SFP, Charge: 06 82 (Macherey-Nagel & Co., Düren) Größe: 20 mm x 75 mm = 15 c

- Chromatographiepapier MN 260 N, Charge: 06 82 (Macherey-Nagel & Co., Düren) Größe 20 mm 75 mm = 15 cm^2
- Veronal-Na-HCl - Puffer, 0,05 M, pH 7,3
- Trasylol^R (Bayer), 500 000 K.I.E. (Kallikrein-Inaktivator-Einheiten) pro 50 ml Flasche
- Test-Streptokinase (Behringwerke), 5000 I.E. pro Ampulle in Trockenpulverform
- 0,1 n NaOH
- Aqua bidest.
- Amidoschwarzlösung 10 B (Merk)
- Elphorentfärber (9 Teile Methanol, 1 Teil Eisessig)
- 2 Inkubatorboxen mit 11 vertikalen Kammern
- 2 Papierhalter für vertikale Aufhängung der Blättchen
- Herausinkubator eingestellt auf 37° Celsius
- Automatisches Gerät für den Färbeprozeß
- 2 Eluationsboxen mit 11 vertikalen Kammern
- Kunststoff-Halbmikroküvetten (Ratiolab)
- Photometer (Eppendorf) mit Momochromatfilter (Hg 546 nm)

Prinzip

Die Messung erfolgte mit der Standart-Fibrin-Papier-Lysebestimmung (SFPL) nach GOOSSENS (32, 34).
Streifen aus Chromatographiepapier, die mit jeweils gleicher Menge von Fibrin beschichtet sind, werden in Testlösungen (verdünnte Citratplasmen) getaucht und so bei 37° Celsius inkubiert. Durch die unterschiedlich starke fibrinolytische Aktivität der Plasmen bedingt kommt es zu einer verschieden starken Andauung und Ablösung des Fibrins. Die Inkubationszeit ist so gewählt, daß sich die fibrinolytische Kapazität fast vollständig erschöpft.

Die Menge des auf den Streifen verbliebenen Fibrins ist umgekehrt proportional der fibrinolytischen Aktivität der Testplasmen.
Durch Anfärbung, Eluation der Farbe in Lösungsmittel und photometrische Messung wird diese Aktivität quantifiziert. Dabei muß die Eigenfärbung der Chromatographieblättchen berücksichtigt werden.

Bei einem zweiten Ansatz wird die Lyse durch den Proteinaseinhibitor Trasylol^{R} (Bayer) blockiert. Aus den beiden ermittelten Extinktionswerten (Plasmawert und gestoppter Wert) berechnet man den relativen Anteil des lysierten Fibrins und gibt ihn als Lysequote in Prozent an. Das selbe Prinzip kann auch bei vorbehandelten, z. B. Streptokinase-aktivierten Plasmen, angewendet werden.

Durchführung

In einem Arbeitsgang können in 2 Inkubationsboxen mit je 11 Kammern 22 Einzelansätze hergestellt werden. Daraus ergibt sich bei 3 Messungen pro Plasma, (Nativwert, Trasylol-gestoppter Wert, Streptokinase-aktivierter Wert) eine Kapazität von 6 Plasmabestimmungen bei jedem Arbeitsgang, wobei pro Box je ein Papierleerwert mit Chromatographiepapier statt Fibrinpapier gemessen wird.

Zu Beginn jedes Messansatzes werden Lösungen bzw. Verdünnungen von Test-Streptokinase und Trasylol^{R} hergestellt: Die Test-Streptokinase liegt als Trockenpulver mit 5000 I.E./Ampulle vor, und wird zuerst in 10 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, und dann 1 ml davon pro Ansatz mit 9 ml Kochsalzlösung auf eine Konzentration von 50 I.E./ml verdünnt. Die Lösung des Trockenpulvers kann nur innerhalb von 4 Stunden ohne wesentlichen Aktivitätsverlust verwendet werden.
Trasylol^{R} ist bereits als Lösung mit 500 000 K.I.E./50 ml erhältlich, und muß im Verhältnis 1 : 9 mit Aqua bidest. verdünnt werden. Dann können die einzelnen Meßkammern gefüllt werden. Es ist darauf zu achten, daß die Plasmen vollständig aufgetaut sind.

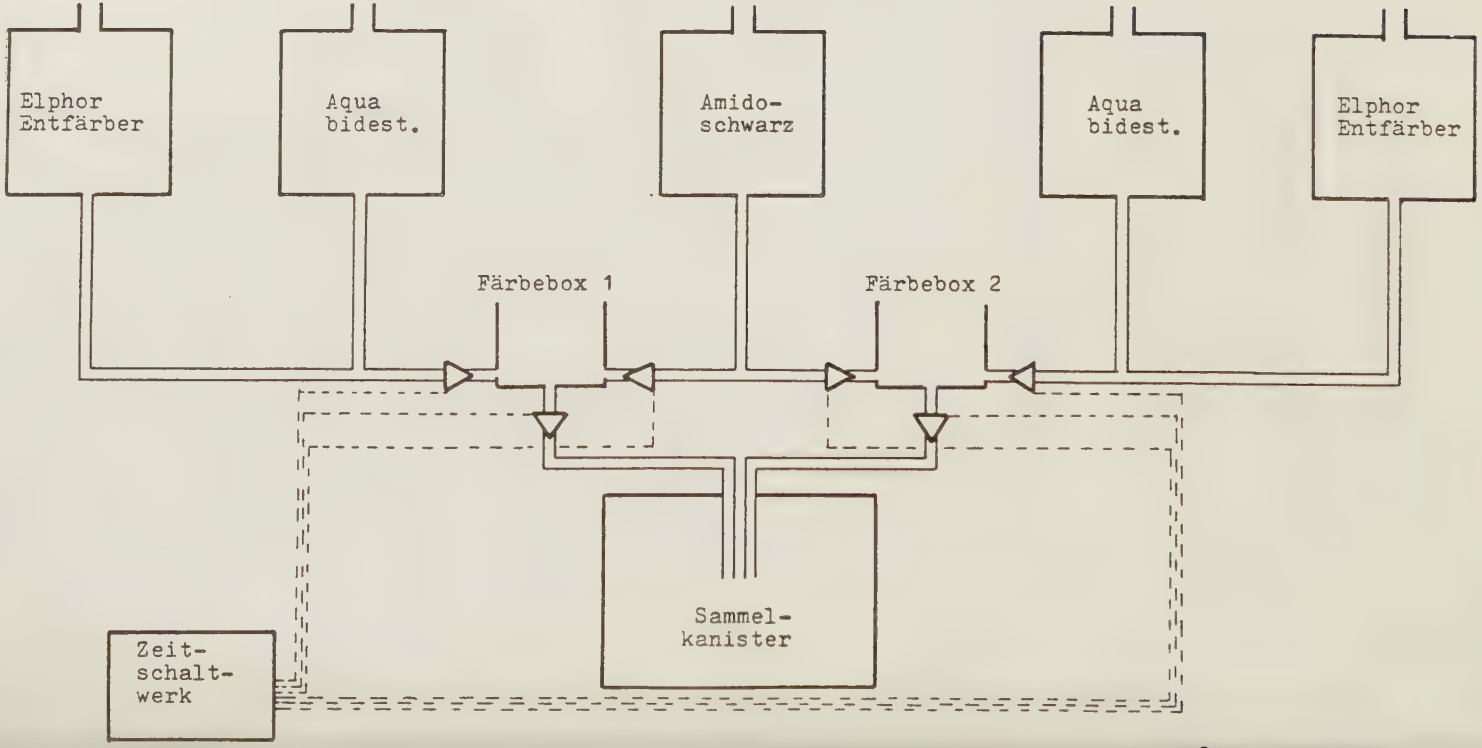
Tabelle 5: Füllmengen der Kammern einer Inkubationsbox

	Kammer	Füllmenge
Plasma 1	1	1ml Plasma1 + 7ml Veronal-Puffer
	2	1ml Plasma1 + 6ml Veronal-Puffer + 1ml Trasylol^{R}-Lsg.
	3	1ml Plasma1 + 6ml Veronal-Puffer + 1ml Sk-Lsg.
Plasma 2	4	1ml Plasma2 + 7ml Veronal-Puffer
	5	1ml Plasma2 + 6ml Veronal-Puffer + 1ml Trasylol^{R}-Lsg.
	6	1ml Plasma2 + 6ml Veronal-Puffer + 1ml Sk-Lsg.
Plasma 3	7	1ml Plasma3 + 7ml Veronal-Puffer
	8	1ml Plasma3 + 6ml Veronal-Puffer + 1ml Trasylol^{R}-Lsg.
	9	1ml Plasma3 + 6ml Veronal-Puffer + 1ml Sk-Lsg.
Leerwert	10	- - -

Je S SFP-Blättchen und 1 Chromatographiepapierblättchen für den Leerwert werden mit einer Pinzette in den Papierhaltern aufgehängt und für 20 Stunden bei 37° C in den gefüllten Inkubationsboxen inkubiert. Die Blättchen bleiben während des ganzen folgenden Ablaufs in den Papierhaltern. Dadurch wird die Handhabung vereinfacht und ein Vertauschen verhindert.

Der Färbeprozeß verläuft vollautomatisch in Färbeboxen in denen die Papierhalter mit den Blättchen durch einen Elektromotor auf und ab bewegt werden (Abb. 7) (34). Ein Zeitschaltwerk steuert den Zu- und Abfluß der Flüssigkeiten.
In jeweils frischem Aqua bidest. werden 12 mal 5 Minuten lang die angedauten Fibrinreste abgewaschen. Darauf folgt die Färbung in Amido-Schwarz (2 x 5 Minuten). Die nicht an Fibrin oder Papier gebundene Farbe wird durch Elphor-Entfärber in 12 Waschvorgängen á 5 Minuten entfernt.

Abbildung 7: Schematische Darstellung des automatischen Färbegeräts



Nach 10 minütigem Trocknen bei 37° C wird die Farbe der Blättchen in je 25 ml NaOH während 30 Minuten eluiert. Die Extinktion des Eluats mißt man im Photometer mit dem 546 nm Monochromatfilter.

Auswertung der Meßergebnisse

Die Lysewerte der nativen Plasmen werden aus den gemessenen Extinktionswerten der unbehandelten Plasmaproben, der durch Trasylol^{R} in ihrer Aktivität gestoppten Plasmaproben, und der dazugehörigen Papierleerbestimmungen, nach folgender Formel berechnet.

$$L\ (\%) = 100 - \frac{(E)\ \text{Eigenlysewert} - (E)\ \text{Leerwert}}{(E)\ \text{Gestoppter Wert} - (E)\ \text{Leerwert}} =$$

$$= 100 \times \frac{(E)\ \text{Gestoppter Wert} - (E)\ \text{Eigenlysewert}}{(E)\ \text{Gestoppter Wert} - (E)\ \text{Leerwert}} ;$$

Bei den streptokinaseaktivierten Plasmen wird der Eigenlysewert durch den entsprechenden Extinktionswert ersetzt.

b) Messung der Plasminogenkonzentration

Verwendete Geräte und Materialien

- automatische Geräteeinheit (Fa. Behring Werke AG) bestehend aus
  - Lasernepholometer
  - Transportautomatik
  - Probenautomatik
- Rechner (Diehl DS 400)
- Künststoffküvetten (Fa. Behring Werke AG)
- Frigen^{R}-Klärungsmittel für trübe Sera (Fa. Hoechst AG)

Prinzip

Es werden eine Plasmaverdünnung und eine gegen das zu bestimmende Protein gerichtete Antiserumverdünnung gemischt.
In diesem Reaktionsgemisch läuft eine Antigen-Antikörper-Reaktion ab, durch die Immunkomplexe entstehen, die eine Trübung verursachen. Schickt man nun durch eine Küvette mit einer Probe der getrübten Lösung einen scharf gebündelten Laserstrahl mit definierter Wellenlänge, so streut sich das Licht in charakteristischer Weise an den Immunkomplexen. Die Streuung erfolgt bei Partikeln, die, wie diese Immunkomplexe, größer sind wie die Wellenlänge des verwendeten Lichts, vor allem in die Ausbreitungsrichtung des Strahls. Dadurch entsteht ein keulenförmiger Bereich erhöhter Lichtintensität hinter den Partikeln (14). Deshalb wird bei der L-Nephelometrie das Vorwärtsstreulicht mittels einer nachgeschalteten Photoelektrode gemessen und die erzeugten Spannungen als Meßwerte angegeben. Das direkte Durchlicht wird beim Meßvorgang über ein optisches System ausgeschaltet.
Zur Umrechnung der Spannungswerte der Photoelektrode in die jeweiligen Konzentrationen erstellt man eine Referenzkurve. Dazu werden Verdünnungen eines Standards mit definierter Konzentration nach oben erläutertem Prinzip gemessen.

Durchführung

Die zu untersuchenden Plasmaproben und der Standard dürfen vor der Bestimmung keine Partikel enthalten, die eine meßbare Trübung verursachen. Eine unterschiedliche Vortrübung der Probandenplasmen würde nach der Reaktion keinen Rückschluß von der Trübung auf die Plasminogenkonzentration erlauben. Deshalb werden die Plasmen im Verhältnis 1 : 1 mit Frigen^{R} kräftig durchmischt, und nach vollständiger Entmischung abpipettiert.
Eine Untersuchung von VOIGT (83) zeigte bei diesem Klärungsverfahren keine signifikante Konzentrationsänderung

für Elektrolyte, verschiedene Enzyme und das Gesamtprotein.
Die geklärten Plasmen werden im Verhältnis 1 : 10 (mit Diluter) oder 1 : 11 (manuell mit Kolbenhubpipette), und das verwendete Antiserum im Verhältnis 1 : 5 mit Kochsalzlösung verdünnt, um optimale Konzentrationen der Reaktionspartner zu erreichen und Material zu sparen.
Zur Auswertung der gemessenen Spannungsdifferenzen sind Referenzwerte notwendig. Deshalb stellt man Standardverdünnungen in den Verhältnissen 1:2,5; 1 : 5; 1 : 10; 1 : 20: 1 : 40 und 1 : 80 her. Als Standard verwendet man ein gepooltes normales Mischplasma, dessen Plasminogenkonzentration als 100 % der Norm angenommen wird.

Das Reaktionsgemisch setzt sich aus 200 µl Antiserumverdünnung und 100 µl Proben- bzw. Standardverdünnung zusammen, und wird zur Messung in Kunststoffküvetten pipettiert. Diese Küvetten müssen vorher auf Verschmutzung oder Kratzer überprüft, und bei Blindwerten größer als 0,3 Volt, aussortiert werden (14).
Bei dem von uns verwendeten Gerät mit Probenautomatik ist lediglich ein manuelles Einpipettieren der unverdünnten Plasma- bzw. Standardproben in die Gefäße der Kassetten und das Bereitstellen der Reagenzien notwendig. Die Verdünnungen und das Reaktionsgemisch werden vollautomatisch hergestellt.

Die Messung erfolgt entweder 60 Minuten nach Beginn der Reaktion, dann ist die Antigen-Antikörper Aggregation weitgehend beendet, und das Meßsignal für etwa 5 - 15 Minuten konstant (14).oder wie bei unserem Gerät mit Transportautomatik nach exakt 30 Minuten in der dynamischen Phase der Reaktion.
Erschütterungen sind während des Ablaufs unbedingt zu vermeiden.

Auswertung der Meßergebnisse

Das von uns verwendete Gerät ist über ein Interface mit einem Rechner (Diehl DS 400) verbunden.
Bei dieser Kombination werden die, in der Photodiode erzeugten, Spannungswerte automatisch an den Rechner weitergegeben und von ihm mit Hilfe der gespeicherten Referenzwerte verarbeitet. Die Spannungsdifferenzen in Volt und die berechneten Plasminogenkonzentrationen in mg/dl werden ausgedruckt. Das Zeichnen der Referenzkurve entfällt.
Der Meßbereich dieser Bestimmungsmethode beträgt 1,6 - 52 mg/dl, der Normalbereich liegt bei 6 - 25 mg/dl (14).

c) Messung der Anti-Thrombin-(AT)-III-Konzentration

Verwendete Geräte und Materialien

- AT III Bestimmungsset (Fa. Boehringer Mannheim) bestehend aus
  - Pufferkonzentrat
  - Tris-Hcl (100 mmol/l)
  - Heparin (1,75 USP-Einheiten)
  - Aprotinin (6,5 IU/ml)
  - NaCl (150 mmol/l)
- Thrombin (0,5 U/ml)
- Chromozym^{R} TH (1,9 mmol/l)
  (= Tos-Gly-Pro-Arg-PNa · AcOH)
- NaCl (0,9 %)
- Automat. Photometer und Rechner (Eppendorf, PCP 6121)
- Drucker (Eppendorf, 6524)
- Kunststoff-Halbmikrokuvetten
- verschiedene Pipetten

Prinzip

AT III bildet als Co-Faktor mit Heparin einen äquimolaren Komplex, der wiederum Thrombin bindet.

Bei dieser Bestimmung werden nun definierte Mengen von Heparin und Thrombin mit dem Testplasma (Citratplasma) vermischt. Die Konzentrationen sind so gewählt, daß bei der Komplexbildung nur ein Teil des Thrombins gebunden wird und ein Rest frei in Lösung bleibt.
Die Quantität der Rest-Thrombinmenge ist bei genügend hoher Konzentration von Heparin direkt abhängig von der AT III Konzentration im Testplasma und katalysiert die Abspaltung von p-Nitroanilin von einer definierten Menge zugegebenen Chromozyms.

Durch die photometrische Messung des entstandenen p-Nitroanilin kann auf die Rest-Thrombinmenge und damit auch auf die AT III Konzentration der Testlösung rückgeschlossen werden.

$$\text{AT III} + \text{Heparin} \longrightarrow (\text{AT III} \cdot \text{Heparin})$$

$$(\text{AT III} \cdot \text{Heparin}) + \text{Thrombin} \longrightarrow (\text{AT III} \cdot \text{Heparin} \cdot \text{Thrombin}) + \text{Thrombin-Rest}$$

$$\text{Tos-Gly-Pro-Arg-pNA} + H_2O \xrightarrow[\text{-Rest}]{\text{Thrombin}} \text{Tos-Gly-Pro-OH} + \text{p-Nitroanilin}$$

Durchführung

Vor Beginn der Messung müssen alle Reagenzien und das Testplasma (= Citratplasma) auf 25° C vortemperiert werden, um diese Meßtemperatur zu gewährleisten.
Die Pufferkonzentratlösung und die Thrombinlösung werden im Verhältnis 1 : 1 gemischt. Die entstehende Thrombin-Heparinlösung muß vor Gebrauch mindestens 30 Minuten lang bei 25° C stehen, und ist dann bei 4° C einen Monat lang haltbar. Da Thrombin an Glas adsorbiert, dürfen nur Kunststoffpipetten und Kunststoffgefäße verwendet werden.
Die Testplasmen verdünnt man pro Volumeneinheit mit 50 Volumeneinheiten NaCl.
Bei jedem Ansatz werden 0,05 ml des verdünnten Plasmas mit 1,00 ml der Thrombin-Heparin-Lösung in Kunststoffküvetten pipettiert und 5 Minuten bei 25° C inkubiert. Dann gibt man 0,1 ml der Chromozym^R-Lösung zu, mischt,

und liest innerhalb von 30 Sekunden die Extinktion E ab.

Diese Messung muß nach genau 30, 60 und 90 Sekunden wiederholt werden. Bei dem von uns verwendeten, automatischen Gerät war dies durch eine eingebaute Zeitschaltuhr gewährleistet. Aus den Differenzen der Extinktionswerte der einzelnen Messungen wird der Mittelwert E_{Probe}/30 sec. gebildet.

Zu jeder Meßserie ist mindestens ein Thrombinleerwert (TL) erforderlich, um die Extinktionsänderung im Reaktionsgemisch ohne den Einfluß des Testplasmas zu quantifizieren.
Dazu führt man die Messung wie oben beschrieben mit 0,05 ml NaCl statt verdünntem Testplasma durch und erhält E_{TL}/30 sec.

Auswertung

Die mittlere Extinktionsänderung des Thrombinleerwertes abzüglich der mittleren Extinktionsänderung des Probenansatzes ist der AT III Konzentration direkt proportional und kann durch Multiplikation mit dem Proportionalitätsfaktor 241 errechnet werden.

$$\text{AT III Konz. in IU/ml} = (E_{TL}/30 \text{ sec.} - E_{Probe}/30 \text{ sec.}) \times 241 = E_{AT\ III}/30 \text{ sec.} \times 241;$$

An den von uns verwendeten automatischen Photometer war ein Rechner mit Drucker angeschlossen, der die gemessenen Extinktionswerte automatisch übermittelt bekam und sowohl $E_{AT\ III}$/30 sec. als auch die AT III Konzentration der Testplasmen berechnete und ausdruckte.

III. ERGEBNISSE

Sowohl bei Gruppe 1 als auch bei Gruppe 2 wurden folgende Parameter bestimmt:
SFPL der nativen und streptokinaseaktivierten Plasmen, Plasminogenkonzentration und AT III Konzentration.

Lyseaktivität

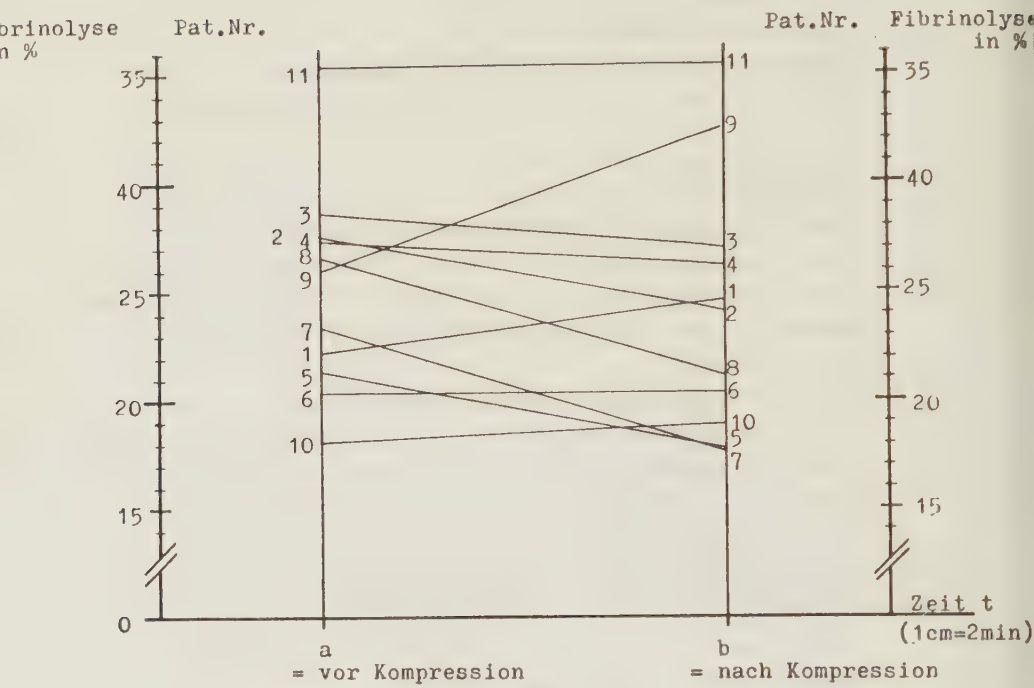
Die gemessenen Extinktionswerte der Gruppe 1 sind in Tabelle 6 und die der Gruppe 2 in Tabelle 9 wiedergegeben. Die zugehörigen Lysequoten finden sich in Tabelle 7 und Tabelle 8 für Gruppe 1 und in Tabelle 10 und Tabelle 11 für Gruppe 2.
Die Fibrinolysewerte streuen intraindividuell relativ stark von Tag zu Tag, wobei sich die Quoten bei den einzelnen Patienten vor und nach Kompression, bzw. Heparingabe, an verschiedenen Tagen häufig gegensinnig verändern. Dabei zeigt sich keine tendenziöse Übereinstimmung des Verhaltens der nativen Werte mit den aktivierten Werten. So steigt z. B. die native Fibrinolysequote bei Pat. Nr. 1 am 1. Tag von 24,3 % auf 24,8 %, während die maximale Aktivierbarkeit von 56,8 % auf 48,5 % fällt (siehe Tab. 7 und Tab. 8)

1. Lyseaktivität bei Gruppe 1

Bei der Gruppe 1 wurden die genannten Parameter vor und nach Kompression bestimmt.
Der Bereich der gemessenen Lysequoten reicht bei den nativen Plasmen von 12,3 % bis 46,6 % und bei den aktivierten Plasmen von 39,1 % bis 74,7 %.

Bei einem Vergleich der mittleren nativen Lysequoten von vor und nach Kompression ergibt sich in 4 Fällen ein Anstieg und in 7 Fällen ein Abfall (siehe Abb. 8).

Abb. 8: Zeitlicher Verlauf der mittleren Lysewerte der nativen Plasmen, Gruppe 1



Die Mittelwerte der gesamten vor der Kompression gemessenen Lysequoten sind mit 25,2 % um 1,1 % höher als nach Kompression mit 24,1 % (siehe Abb. 10). Dies läßt auf den ersten Blick einen Abfall der Fibrinolyseaktivität durch die Kompression vermuten. Eine Überprüfung mit dem Wilcoxon Test (siehe S. 60) ergab jedoch bei einem Signifikanzniveau von 5 % keine Änderung der Lysequoten. Damit konnte die Hypothese der Fibrinolyseaktivierung durch die in der beschriebenen Weise durchgeführte intermittierende sequentielle Kompression nicht bewiesen werden.

Tabelle 6: Gemessene Extinktionswerte, Gruppe 1, (x 1000)

a = vor Kompression
b = nach Kompression

P = Plasmawert
G = gestoppter Wert
A = aktivierter Wert
L = Papierleerwert

Pat. Nr.	1. Tag				2. Tag				3. Tag			
	P	G	A	L	P	G	A	L	P	G	A	L
1a	790	925	610	370	820	960	660	400	840	940	655	360
1b	810	955	620	370	830	970	670	400	750	880	600	360
2a	765	980	670	330	875	1050	620	365	810	950	580	365
2b	830	990	685	330	880	1050	610	365	700	810	590	320
3a	640	800	530	320	720	850	600	400	700	810	580	370
3b	650	800	510	320	700	825	610	400	740	835	570	370
4a	840	1080	700	410	960	1070	735	410	920	1130	765	415
4b	900	1100	770	410	940	1080	720	415	920	1120	715	415
5a	975	1080	845	365	990	1140	825	365	860	1095	730	305
5b	1020	1160	850	365	830	975	725	305	910	1010	720	305
6a	935	1090	830	415	965	1110	820	425	990	1100	760	450
6b	975	1110	815	415	905	1055	740	425	970	1085	810	450
7a	950	1140	805	425	875	1000	670	420	875	1000	670	420
7b	990	1130	745	425	885	950	675	420	800	895	660	395
8a	865	1100	670	395	930	1090	795	435	875	1000	775	435
8b	820	960	610	395	940	1090	840	435	920	1010	725	435
9a	810	915	580	380	720	950	580	355	800	910	620	355
9b	770	940	610	380	740	975	560	355	750	915	590	360
10a	815	925	615	430	900	1000	725	405	900	990	760	405
10b	860	935	590	430	940	1035	755	405	815	970	715	385
11a	825	975	545	410	740	900	530	410	850	1230	640	415
11b	785	970	550	410	835	1050	640	415	830	1100	635	415

Tabelle 7: Fibrinolysewerte der nativen Plasmen, Gruppe 1

a = vor Kompression b = nach Kompression

Pat.Nr.	Fibrinolysewerte in %			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnittswert
1a	24,3	25,0	17,2	22,2
1b	24,8	24,6	25,0	24,7
2a	33,1	25,5	23,9	27,6
2b	24,2	24,8	22,4	24,2
3a	33,3	28,2	25,0	28,8
3b	31,1	29,4	20,4	27,0
4a	35,8	16,6	29,5	27,3
4b	29,0	21,1	28,4	26,2
5a	14,7	19,4	29,7	21,3
5b	17,6	21,6	14,2	17,8
6a	23,0	21,3	16,9	20,3
6b	19,4	23,8	18,1	20,4
7a	26,6	21,6	21,9	23,3
7b	19,9	12,3	19,0	17,7
8a	33,3	24,4	22,1	26,6
8b	24,7	22,9	15,7	21,1
9a	19,6	38,7	19,8	26,0
9b	30,4	37,9	29,7	32,7
10a	22,2	16,8	15,4	18,1
10b	14,8	15,1	26,5	18,8
11a	26,5	32,7	46,6	35,3
11b	33,0	33,9	39,4	35,4

Tabelle 8 : Fibrinolysewerte der streptokinasaktivierten Plasmen, Gruppe 1

a = vor Kompression b = nach Kompression

Pat.Nr.	Fibrinolysewerte in %			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnittswert
1a	56,8	53,6	49,1	53,2
1b	48,5	52,6	53,8	51,6
2b	47,4	62,8	63,2	57,9
2b	46,2	64,2	44,9	51,8
3a	56,2	55,6	52,0	56,6
3b	60,4	50,6	57,0	56,0
4a	56,7	50,8	51,1	52,9
4b	47,8	54,1	57,4	53,1
5a	32,9	40,6	46,2	39,9
5b	39,0	37,3	41,1	39,1
6a	38,5	42,3	52,3	44,4
6b	42,4	50,0	43,3	45,2
7a	46,9	57,0	56,9	53,6
7b	54,6	51,9	47,0	51,2
8a	61,0	45,0	39,8	48,6
8b	61,9	38,2	50,4	50,2
9a	62,6	62,2	52,3	59,0
9b	58,9	66,9	58,6	61,5
10a	62,2	46,2	39,3	49,4
10b	68,3	44,4	43,6	54,1
11a	76,1	75,5	72,4	74,7
11b	75,0	64,6	67,9	69,2

Bei den Lysequoten der aktivierten Plasmen, die die maximale fibrinolytische Aktivierbarkeit widerspiegeln, ergibt sich ein ähnliches Bild:
In 5 Fällen steigt die mittlere Lysequote während der Kompression an, in 6 Fällen fällt sie ab. Die mittlere Lysequote aller vor der Kompression gemessenen Werte war mit 53,4 % um 0,6 % größer als diejenige nach der Kompression mit 52,8 % (siehe Abb. 10).
Dieser Unterschied ist jedoch nach dem Wilcoxon Test bei einem Signifikanzniveau von 5 % nicht als signifikant zu werten.

Abbildung 9: Zeitlicher Verlauf der mittleren Lysewerte der aktivierten Plasmen, Gruppe 1

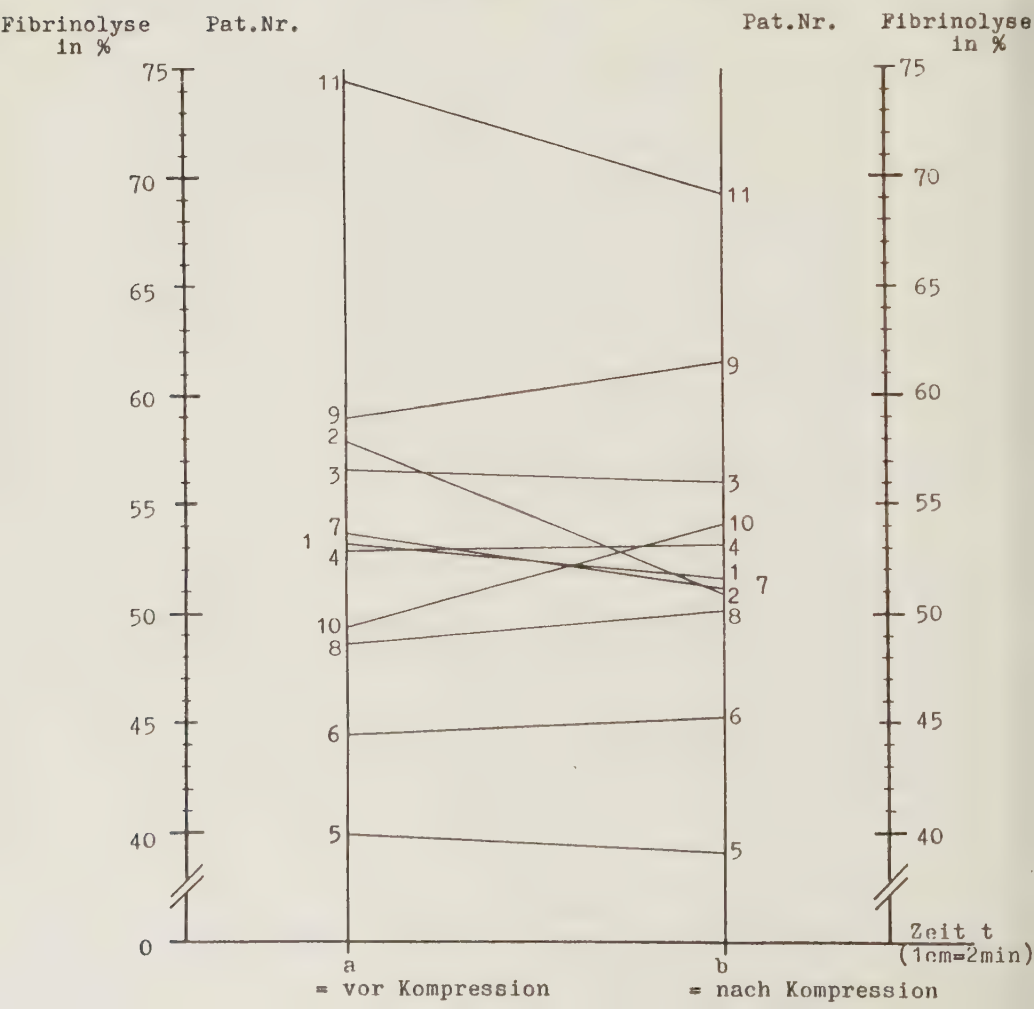
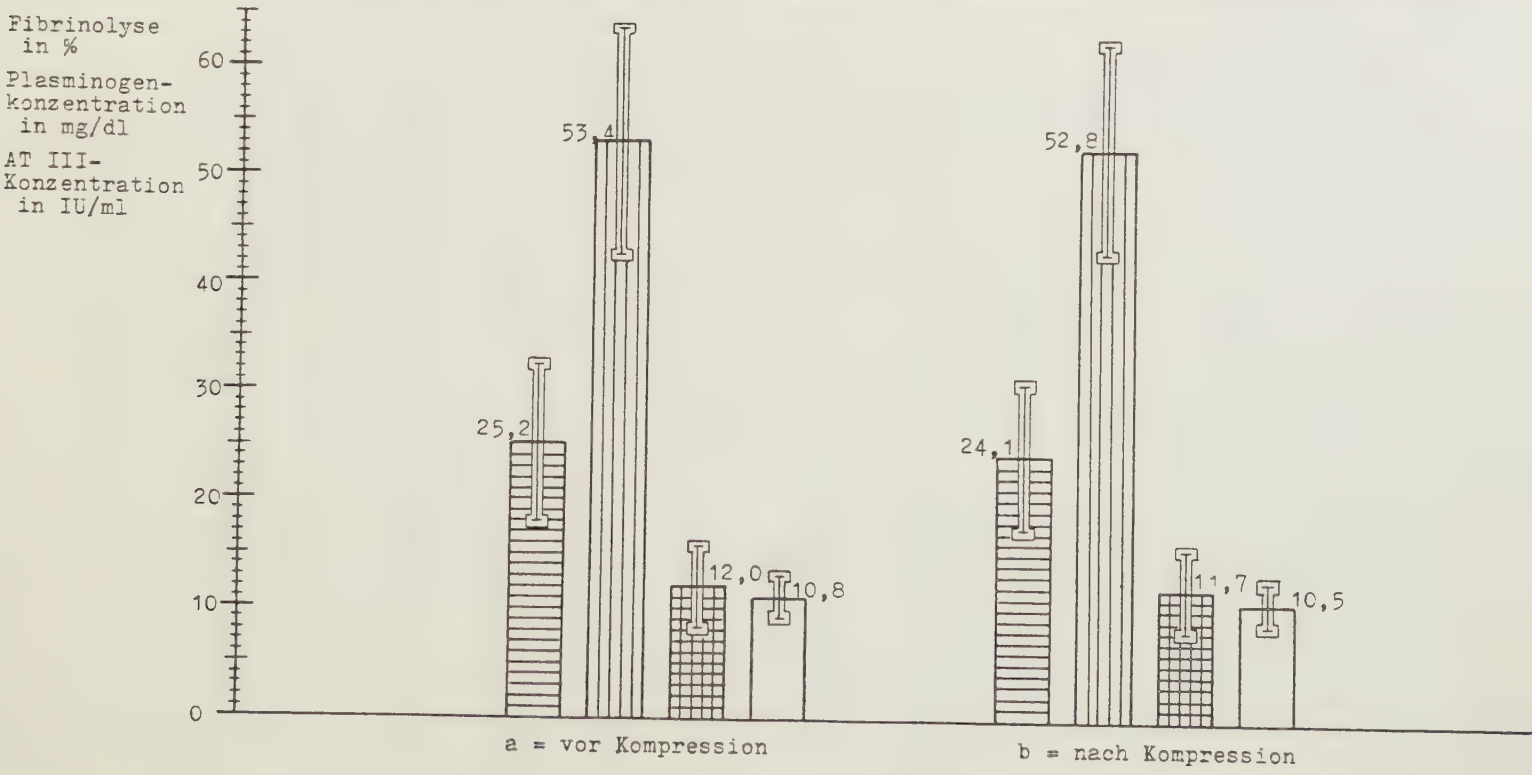


Abbildung 10 : Graphische Darstellung der Gesamtdurchschnittswerte (± Standardabweichung) der Fibrinolyse der nativen und aktivierten Plasmen, des Plasminogen- und AT III Gehalts, Gruppe 1



2. Lyseaktivität bei Gruppe 2

In der Gruppe 2 wurden die Parameter vor und nach Heparingabe und nach der anschließenden Kompression bestimmt. Die Lysequoten zeigen bei den nativen Plasmen eine Streuung von 7 % bis 46,3 % und bei den aktivierten Plasmen von 39,6 % bis 69,9 %. Bei den nativen Plasmen steigen die mittleren Lysequoten der Versuchspersonen in 7 Fällen nach Heparingabe an und fallen 4 mal ab. Während der darauffolgenden Kompression steigen die Quoten 5 mal an und fallen 6 mal ab. Über den gesamten Zeitraum der Heparingabe und Kompression hinweg zeigt sich 8 mal ein Anstieg und 3 mal ein Abfall (siehe Abb. 11).

Die Mittelwerte aller Lysequoten der nativen Plasmen steigen von 25,3 % vor Heparingabe,auf 26,7 % nach Heparingabe und sinken dann auf 26,1 % nach Kompression ab (siehe Abb. 13).
Auch hier ergibt eine Überprüfung mit dem Wilcoxon Test keine signifikante Änderung.
Die Hypothese einer Fibrinolyseaktivierung durch die in der beschriebenen Weise durchgeführten Heparingabe oder Kompression oder die Kombination von beidem konnte nicht bewiesen werden.

Die Ergebnisse der aktivierten Plasmen verhalten ähnlich wie die der nativen Plasmen.(siehe Abb. 12).
Die einzelnen Werte der nativen und aktivierten Plasmen sind in Tabelle 10 bzw. 11 dargestellt.

Tabelle 9 : Gemessene Extinktionswerte, Gruppe 2, (x 1000)

c = vor Heparingabe
d = nach Heparingabe
= vor Kompression
e = nach Kompression

P = Plasmawert
G = gestoppter Wert
A = aktivierter Wert
L = Papierleerwert

Pat.Nr.	1. Tag				2. Tag				3. Tag			
	P	G	A	L	P	G	A	L	P	G	A	L
12c	820	1010	700	330	950	1095	840	300	770	1010	620	320
12d	780	965	650	330	900	1055	820	300	790	1010	680	320
12e	750	990	675	330	915	1070	850	300	760	970	670	320
13c	970	1080	700	240	875	1070	650	295	875	985	700	450
13d	870	1050	685	240	820	990	660	295	810	910	690	450
13e	980	1090	680	240	830	1020	655	295	860	990	690	450
14c	980	1115	815	395	985	1070	775	430	1040	1165	700	435
14d	1010	1100	750	400	1015	1180	740	430	950	1030	715	435
14e	925	1090	815	395	1025	1070	780	430	950	1100	710	435
15c	845	945	640	370	820	940	625	350	800	900	630	375
15d	780	920	580	370	800	960	620	350	820	915	610	375
15e	840	960	640	370	805	970	625	350	790	955	620	375
16c	870	1000	600	410	920	1010	605	415	955	1030	675	400
16d	890	1010	630	410	895	1000	610	415	910	1010	705	400
16e	910	1040	645	410	890	1045	605	415	915	990	720	400
17c	915	1050	670	370	895	1025	650	400	780	985	620	390
17d	855	1030	640	370	790	1000	610	400	825	1000	620	390
17e	840	1020	675	370	855	1000	610	400	780	930	600	390

Fortsetzung von
Tabelle 9: Gemessene Extinktionswerte, Gruppe 2, (x 1000)

c = vor Heparingabe
d = nach Heparingabe
= vor Kompression
e = nach Kompression

P = Plasmawert
G = gestoppter Wert
A = aktivierter Wert
L = Papierleerwert

Pat.Nr.	1. Tag				2. Tag				3. Tag			
	P	G	A	L	P	G	A	L	P	G	A	L
18c	870	1125	635	415	920	1090	630	410	945	1050	660	475
18d	875	1010	645	415	880	1090	620	410	920	1070	660	475
18e	860	1025	640	415	890	1080	610	410	945	1050	650	475
19c	790	935	620	430	785	995	680	435	870	1000	670	415
19d	765	925	610	430	800	1040	680	435	830	965	665	415
19e	800	940	600	430	865	1050	665	435	860	1010	655	415
20c	780	1080	640	420	850	1050	630	410	830	960	620	410
20d	790	1100	640	420	830	1015	650	410	775	935	615	410
20e	830	1120	620	420	825	1020	640	410	875	950	600	410
21c	770	970	600	405	845	990	635	420	900	1040	600	390
21d	795	965	595	405	815	910	640	420	875	970	620	390
21e	810	990	605	405	800	965	625	420	860	1020	630	390
22c	740	940	560	355	710	935	550	360	690	910	575	355
22d	715	915	575	355	690	975	545	360	700	910	570	355
22e	710	975	560	355	700	900	570	360	730	925	570	355

Tabelle 10: Fibrinolysewerte der nativen Plasmen, Gruppe 2

c = vor Heparingabe
d = nach Heparingabe
= vor Kompression
e = nach Kompression

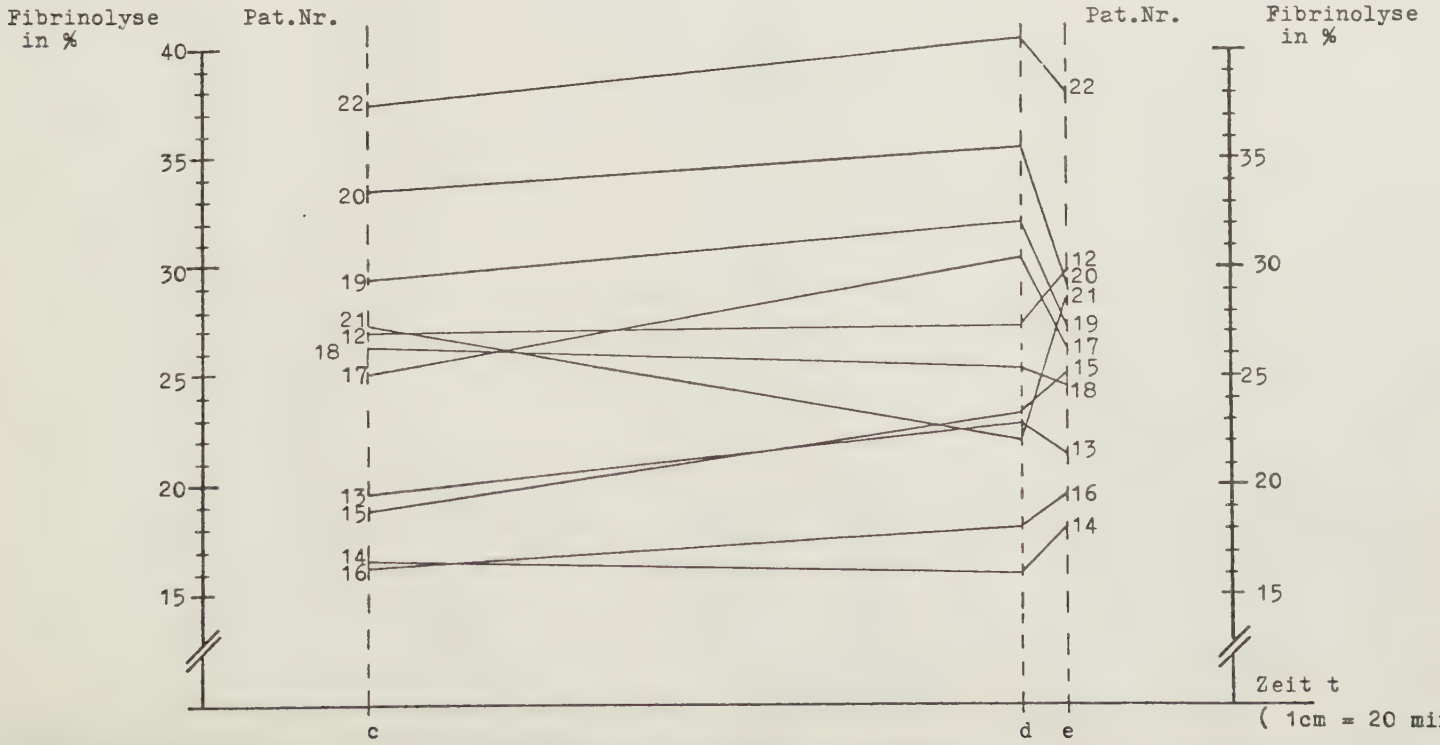
Pat.Nr.	Fibrinolysewerte in %			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnittswert
12c	27,9	18,2	34,8	27,0
12d	29,1	20,5	31,9	27,2
12e	36,4	20,1	32,3	29,5
13c	13,0	25,2	20,6	19,6
13d	22,2	24,5	21,7	22,8
13e	12,9	26,2	24,1	21,2
14c	18,8	13,9	17,1	16,6
14d	12,8	22,0	13,4	16,1
14e	23,7	7,0	22,6	17,8
15c	17,4	20,3	19,0	18,9
15d	25,5	26,2	17,0	23,1
15e	20,3	26,6	28,4	25,1
16c	22,0	15,1	11,9	16,3
16d	20,0	17,9	16,4	18,1
16e	20,6	24,6	12,7	19,3
17c	19,9	20,8	34,5	25,1
17d	26,5	35,0	28,7	30,7
17e	27,5	24,2	27,8	26,5
18c	35,9	25,0	18,3	26,4
18d	22,7	30,9	25,2	26,3
18e	27,0	28,4	18,3	24,6
19c	28,7	37,5	22,2	29,4
19d	32,3	39,7	24,5	32,2
19e	27,5	30,1	25,2	27,6
20c	45,4	31,3	23,6	33,5
20d	45,6	30,6	30,5	35,6
20e	41,4	32,0	13,9	29,1
21c	35,4	25,4	21,5	27,4
21d	30,4	19,4	16,4	22,1
21e	30,4	30,3	25,4	28,7
22c	34,2	39,1	39,6	37,5
22d	37,5	46,3	37,8	40,5
22e	42,7	37,0	34,2	38,0

Tabelle 11: Fibrinolysewerte der streptokinaseaktivierten Plasmen, Gruppe 2

c = vor Heparingabe
d = nach Heparingabe = vor Kompression
e = nach Kompression

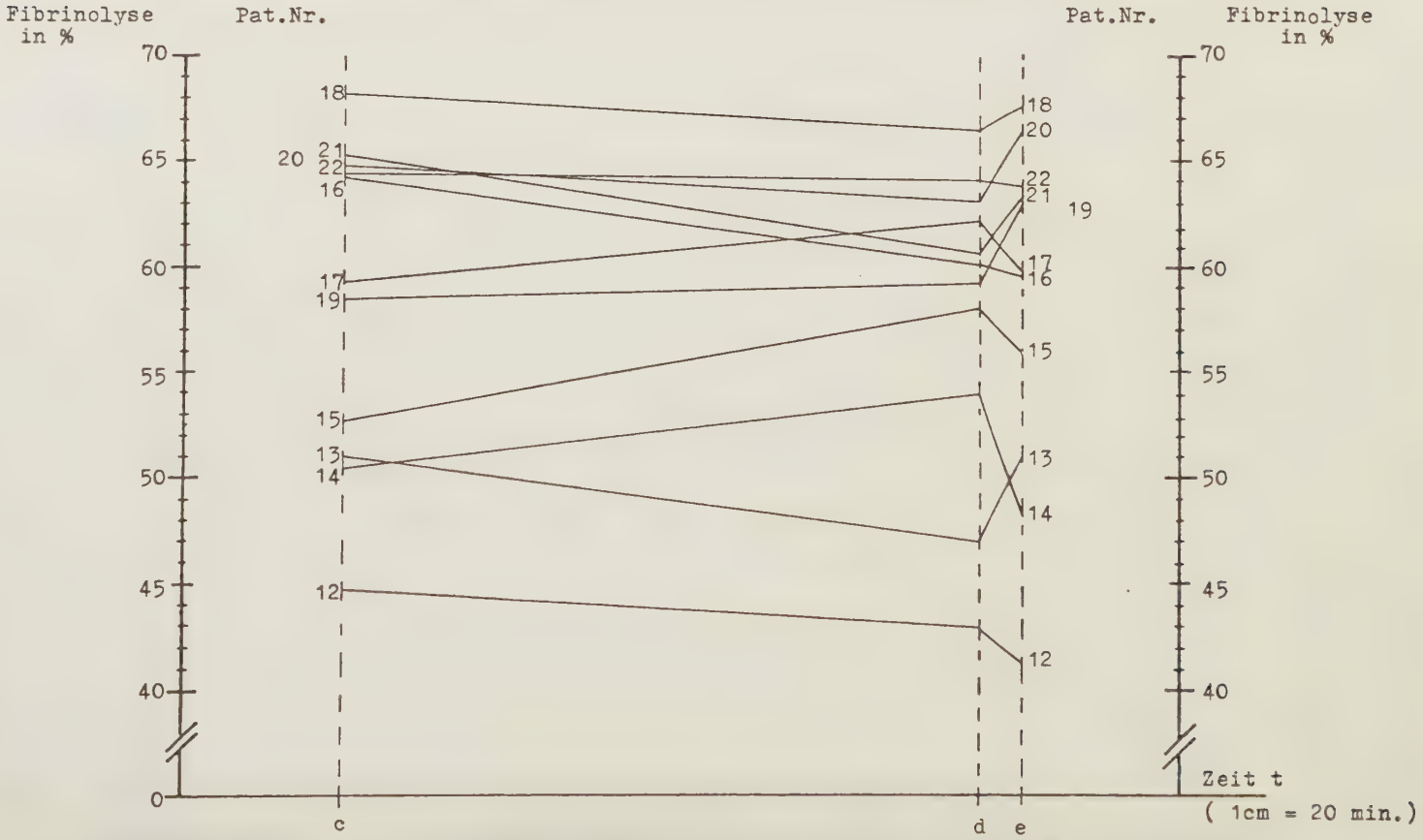
Pat.Nr.	Fibrinolysewerte in %			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnittswert
12c	45,6	32,1	56,5	44,7
12d	49,6	31,3	47,8	42,8
12e	47,7	28,6	46,1	40,8
13c	45,2	54,2	53,3	50,9
13d	45,1	47,5	47,8	46,8
13e	48,2	50,3	55,6	51,4
14c	41,7	46,1	63,7	50,4
14d	50,0	58,7	52,9	53,9
14e	39,6	45,3	58,7	47,8
15c	53,0	53,4	51,4	52,6
15d	61,8	55,7	56,5	58,0
15e	54,2	55,7	57,8	55,9
16c	67,8	68,1	56,3	64,1
16d	63,3	66,7	50,0	60,0
16e	62,7	69,8	45,8	59,4
17c	55,9	60,0	61,3	59,1
17d	59,1	65,0	62,2	62,1
17e	53,0	65,0	61,1	59,7
18c	69,0	67,6	67,8	68,1
18d	61,3	69,1	68,9	66,4
18e	63,1	70,1	69,6	67,6
19c	62,4	56,3	56,4	58,4
19d	63,6	59,5	54,5	59,2
19e	66,7	62,6	59,7	63,0
20c	66,7	65,6	61,8	64,7
20d	67,7	60,3	61,0	63,0
20e	71,4	62,3	64,8	66,2
21c	65,5	62,3	67,2	65,2
21d	66,0	55,1	60,3	60,5
21e	65,8	62,4	61,9	63,4
22c	65,0	67,0	60,4	64,3
22d	60,7	69,9	61,3	64,0
22e	66,9	61,1	62,9	63,6

Abbildung 11 : Zeitlicher Verlauf der mittleren Lysewerte der nativen Plasmen, Gruppe 2



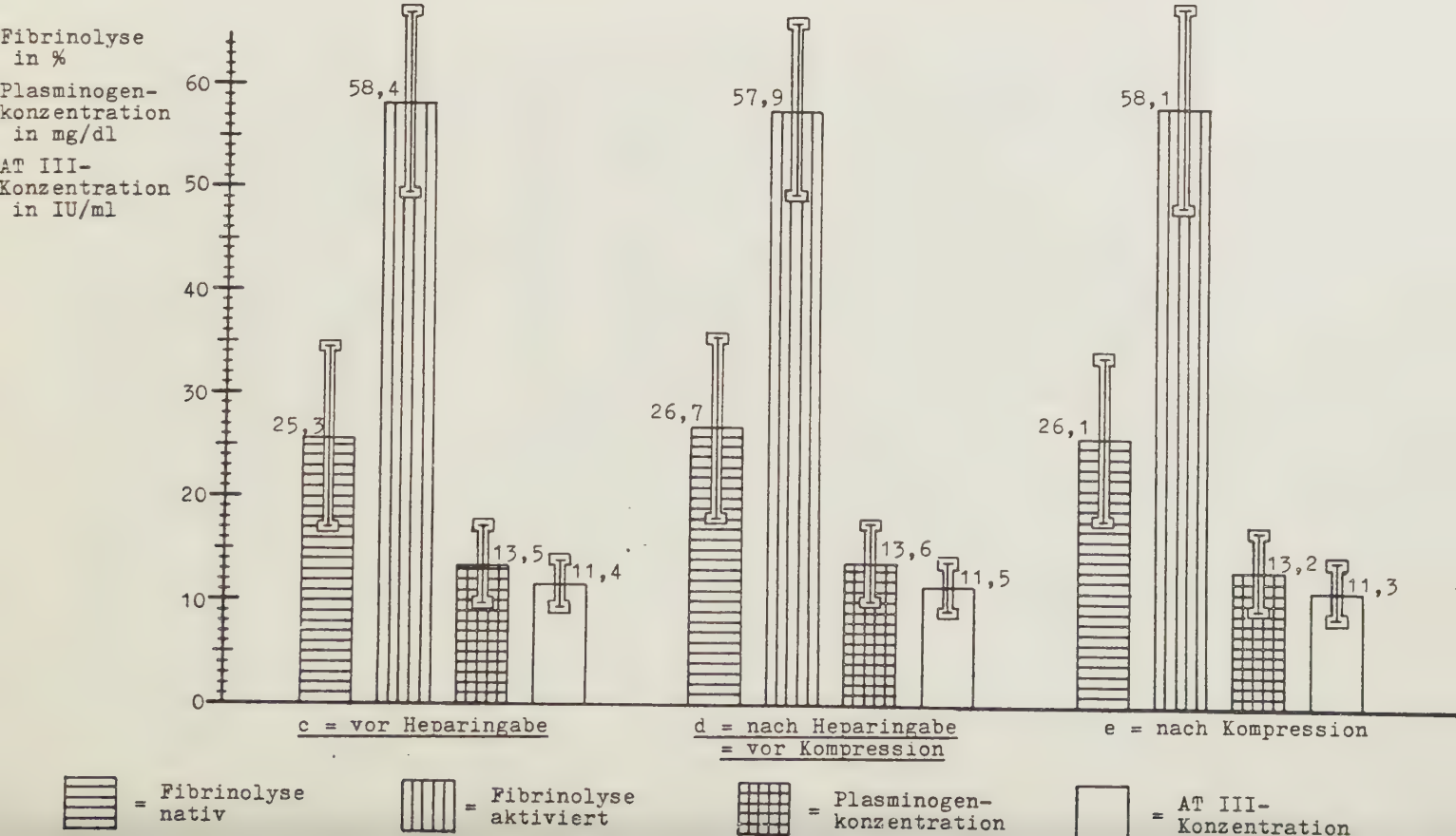
c = vor Heparingabe d = nach Heparingabe = nach Kompression e = nach Kompression

Abbildung 12 : Zeitlicher Verlauf der mittleren Lysewerte der aktivierten Plasmen, Gruppe 2



c = vor Heparingabe d = nach Heparingabe = nach Kompression e = nach Kompression

Abbildung 13 : Graphische Darstellung der Gesamtdurchschnittswerte (± Standardabweichung) der Fibrinolyse der nativen und aktivierten Plasmen, des Plasminogen- und AT III- Gehalts, Gruppe 2



3. Plasminogen und Anti-Thrombin-III-Konzentration bei Gruppe 1 und Gruppe 2

Plasminogen- und AT III-Konzentration wurden bestimmt, um eine etwaige Lyseerhöhung durch die Kompression bzw. durch die Heparingabe besser deuten und erklären zu können.
Die zur Plasminogenbestimmung bei der Nephelometrie gemessenen Spannungsdifferenzen sind in Tabelle 12 und 14, die dazugehörigen Konzentratioen in Tabelle 13 und 15 und die AT III-Konzentrationen in Tabelle 16 und 17 wiedergegeben.

Bei den Probanden Pat. Nr. 9 und 15 wurden abnorm niedrige Plasminogenwerte gemessen (siehe Tab. 13 und 14). Die Anamnese von Pat. Nr. 9 weist keine Besonderheit auf, Pat. Nr. 15 ist ein insulinbehandlungspflichtiger Diabetiker (siehe Tab. 4). In beiden Fällen waren die Lysequoten nicht auffällig hoch oder niedrig.
Aber auch die höchsten gemessenen Plasminogenwerte gingen mit normalen Lysequoten einher. Der in diesem Fall aus der Anamnese bekannte Alkoholabusus (Tab. 4) würde eher erniedrigte Plasminogenwerte erklären.

Die AT III-Konzentrationen waren bei Pat. Nr. 4, 5, 13 und 15 mit Werten zwischen 6,9 und 8,7 IU/ml erniedrigt (Normbereich bei dieser Bestimmungsmethode: 10 - 15 IU/ml). Die dazugehörigen Lysequoten bewegen sich in der unteren Hälfte des Meßbereichs.
Erhöhte AT III-Konzentrationen traten nicht auf.

Tabelle 12 : Bei der Nephelometrie gemessene Spannungsdifferenzen (Doppelbestimmung), Gruppe 1

a = vor Kompression b = nach Kompression

Pat.Nr.	Spannungsdifferenzen in Volt (Doppelbestimmungen mit Bindestrich verbunden)		
	1. Tag	2. Tag	3. Tag
1a	5,73-5,73	4,85-4,77	4,70-4,63
1b	5,12-5,04	4,65-4,62	4,65-4,55
2a	8,68-8,37	7,66-7,57	7,03-7,01
2b	8,47-8,29	7,66-7,63	7,08-6,95
3a	5,67-5,60	5,71-5,56	6,33-6,18
3b	5,69-5,62	5,16-5,02	5,74-5,59
4a	5,89-5,79	5,58-5,47	6,42-6,31
4b	6,36-6,29	5,56-5,39	6,22-6,17
5a	6,43-6,28	6,06-5,38	5,96-5,95
5b	6,50-6,45	6,04-6,17	5,98-5,82
6a	6,04-6,19	6,52-6,60	5,88-5,83
6b	6,40-6,43	6,21-6,34	5,71-5,60
7a	6,87-6,95	6,48-6,43	6,21-6,24
7b	6,63-6,63	6,70-6,45	7,00-7,00
8a	4,92-5,01	4,32-4,40	4,36-4,42
8b	4,84-4,93	4,04-4,10	4,21-4,28
9a	1,27-1,33	1,51-1.58	1,53-1,55
9b	1,42-1,48	1,77-1,82	2,05-2,12
10a	7,18-7,25	5,85-5,87	5,82-5,87
10b	6,63-6,65	5,97-6,02	5,58-5,63
11a	5,93-5,92	5,60-5,54	5,39-5,40
11b	5,23-5,31	5,49-5,47	5,43-5,40

Tabelle 13 : Plasminogenkonzentration der Plasmen, (Doppelbestimmung), Gruppe 1

a = vor Kompression b = nach Kompression

Pat.Nr.	Plasminogenkonzentration in mg/dl (Doppelbestimmungen mit Bindestrich verbunden)			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnittswert
1a	12,1-12,1	9,7- 9,5	9,3- 9,2	10,3
1b	10,4-10,2	9,2- 9,1	9,2- 9,0	9,5
2a	22,3-21,0	18,2-17,9	16,0-15,9	18,6
2b	21,4-20,6	18,2-18,1	16,2-15,7	18,4
3a	11,9-11,7	12,0-11,6	13,8-13,4	12,4
3b	12,0-11,8	10,5-10,2	12,1-11,7	11,4
4a	12,5-12,2	11,6-11,4	14,1-13,7	12,6
4b	13,9-13,7	11,6-11,1	13,5-13,3	12,9
5a	14,1-13,6	13,0-12,3	12,7-12,7	13,1
5b	14,3-14,2	12,9-13,3	12,8-12,3	13,3
6a	13,0-13,4	14,4-14,6	12,5-12,3	13,4
6b	14,2-14,1	13,4-13,8	12,0-11,7	13,2
7a	15,5-15,7	14,3-14,1	13,4-13,5	14,4
7b	15,5-15,7	14,3-14,1	13,4-13,5	14,4
8a	9,9-10,1	8,4- 8,6	8,5- 8,7	9,0
8b	9,7- 9,9	7,8- 7,9	8,2- 8,3	8,6
9a	2,4- 2,5	2,8- 2,9	2,8- 2,9	2,7
9b	2,6- 2,7	3,2- 3,3	3,7- 3,8	3,1
10a	16,5-16,7	12,4-12,5	12,3-12,5	13,8
10b	14,7-14,8	12,7-12,9	11,6-11,8	13,1
11a	12,6-12,6	11,7-11,5	11,1-11,2	11,8
11b	10,7-10,9	11,4-11,4	11,2-11,2	11,1

Tabelle 14: Bei der Nephelometrie gemessene Spannungsdifferenzen (Doppelbestimmung), Gruppe 2

c = vor Heparingabe e = nach Kompression
d = nach Heparingabe = vor Kompression

Pat.Nr.	Spannungsdifferenzen in Volt (Doppelbestimmungen mit Bindestrich verbunden)		
	1. Tag	2. Tag	3. Tag
12c	6,83-6,96	5,87-5,95	6,04-6,10
12d	6,30-6,43	6,16-6,34	5,75-5,96
12e	6,06-6,20	6,05-6,19	5,85-6,04
13c	6,84-7,03	7,36-7,36	7,00-7,01
13d	7,26-7,41	6,79-6,67	7,05-7,16
13e	7,44-7,65	7,11-7,16	6,63-6,68
14c	6,56-6,79	6,26-6,26	5,82-5,88
14d	6,19-6,26	5,55-5,60	5,50-5,56
14e	6,42-6,49	6,44-6,52	5,48-5,49
15c	2,48-2,54	2,15-2,21	2,81-2,86
15d	2,15-2,22	1,83-1,91	2,38-2,34
15e	2,15-2,20	2,24-2,27	1,51-1,50
16c	7,32-7,55	7,15-6,98	7,37-7,39
16d	7,52-7,54	7,32-7,47	7,54-7,61
16e	7,50-7,51	6,98-6,94	7,19-7,24
17c	7,26-7,36	6,01-6,12	5,64-5,67
17d	6,59-6,70	6,56-6,60	5,47-5,58
17e	6,41-6,47	5,96-6,02	5,56-5,54
18c	7,15-7,16	7,53-7,56	7.59-7,67
18d	7,28-7,24	7,23-7,35	7,52-7,52
18e	7,45-7,49	7,49-7,46	7,50-7,50
19c	6,27-6,30	6,36-6,15	6,26-6,21
19d	6,25-6,28	7,39-7,32	7,16-7,03
19e	6,43-6,25	6,70-6,60	6,31-6,21
20c	6,45-6,40	5,59-5,48	5,19-5,24
20d	6,35-6,24	5,29-5,28	5,16-5,04
20e	5,75-5,44	5,54-5,68	5,04-5,03
21c	6,21-6,13	5,97-5,89	5,89-5,90
21d	6,42-6,38	6,06-5,91	5,83-5,87
21e	6,23-6,18	5,75-5,74	5,82-5,87
22c	6,45-6,38	6,71-6,64	6,16-5,98
22d	7,08-6,98	6,96-6,63	6,54-6,36
22e	6,54-6,49	6,47-6,49	6,34-6,07

Tabelle 15: Plasminogenkonzentration der Plasmen (Doppelbestimmung), Gruppe 2

c = vor Heparingabe d = nach Kompression
d = nach Hepaeingabe = vor Kompression

Pat.Nr.	Plasminogenkonzentration in mg/dl (Doppelbestimmungen mit Bindestrich verbunden)			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnitts-wert
12c	15,4-15,8	12,5-12,7	12,9-13,1	13,7
12d	13,7-14,1	13,3-13,8	12,1-12,7	13,3
12e	13,0-13,4	13,0-13,4	12,4-12,9	13,0
13c	15,4-16,0	17,1-17,1	15,9-15,9	16,2
13d	16,8-17,3	15,2-14,8	16,1-16,4	16,1
13e	17,4-18,2	16,3-16,4	14,7-14,9	16,3
14c	14,5-15,2	13,6-13,6	12,3-12,5	13,6
14d	13,4-13,6	11,6-11,7	11,4-11,6	12,2
14e	14,1-14,3	14,1-14,4	11,4-11,4	13,3
15c	4,5- 4,6	3,9- 4,0	5,1- 5,2	4,6
15d	3,9- 4,0	3,3- 3,5	4,3- 4,2	3,9
15e	3,9- 4,0	4,1- 4,1	2,8- 2,8	3,6
16c	17,0-17,8	16,4-15,8	17,2-17,2	16,9
16d	17,7-17,8	17,0-17,5	17,8-18,0	17,6
16e	17,6-17,7	15,8-15,7	16,5-16,7	16,7
17c	16,8-17,1	12,9-13,2	11,8-11,9	14,0
17d	14,6-14,9	14,5-14,6	11,4-11,6	13,6
17e	14,0-14,2	12,7-12,9	11,6-11,5	12,8
18c	16,4-16,4	17,7-17,8	17,9-18,2	17,4
18d	16,9-16,7	16,7-17,1	17,7-17,7	17,1
18e	17,4-17,6	17,6-17,5	17,6-17,6	17,6
19c	13,6-13,7	13,9-13,3	13,6-13,4	13,6
19d	13,6-13,6	17,2-17,0	16,4-16,0	15,6
19e	13,6-13,7	13,9-13,3	13,6-13,4	13,6
20c	14,2-14,0	11,7-11,4	10,6-10,7	12,1
20d	13,9-13,5	10,9-10,8	10,5-10,2	11,6
20e	12,1-11,3	11,5-12,0	10,2-10,2	11,2
21c	13,4-13,2	12,7-12,5	12,5-12,5	12,8
21d	14,1-13,9	13,0-12,6	12,3-12,5	13,1
21e	13,5-13,4	12,1-12,1	12,3-12,3	12,6
22c	14,2-13,9	15,0-14,7	13,3-12,8	14,0
22d	16,2-15,8	15,8-14,7	14,4-13,9	15,1
22e	14,4-14,3	14,2-14,3	13,8-13,0	14,0

Tabelle 16 : Antithrombin III Konzentrationen der Plasmen, Gruppe 1

a = vor Kompression b = nach Kompression

Pat.Nr.	Antithrombin III Konzentration in IU/ml			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnittswert
1a	11,3	10,1	10,3	10,6
1b	9,9	10,1	10,3	10,1
2a	14,1	11,5	12,4	12,7
2b	14,3	10,4	11,1	11,9
3a	9,1	10,2	12,3	10,5
3b	8,0	8,4	8,5	8,3
4a	8,6	8,0	7,6	8,1
4b	9,3	8,4	8,3	8,7
5a	6,4	7,5	8,3	7,4
5b	7,1	7,3	8,0	7,5
6a	10,3	10,4	10,1	10,3
6b	10,4	9,6	9,6	9,9
7a	10,7	10,9	10,5	10,7
7b	10,8	10,3	9,7	10,3
8a	12,6	11,8	12,3	12,2
8b	13,1	12,5	11,5	12,4
9a	10,4	10,5	11,0	10,6
9b	10,2	10,2	10,1	10,2
10a	12,7	11,4	10,6	11,6
10b	11,5	11,6	10,6	11,2
11a	13,2	14,1	14,1	13,8
11b	14,7	14,4	14,3	14,5

Tabelle 17: AT-III-Konzentration der Plasmen, Gruppe 2

c = vor Heparingabe e = nach Kompression
d = nach Heparingabe = vor Kompression

Pat.Nr.	AT-III-Konzentration in IU/ml			
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	Durchschnittswert
12c	10,6	9,6	9,6	9,9
12d	10,2	9,9	11,6	10,6
12e	10,7	6,5	10,1	9,1
13c	7,5	8,4	8,5	8,1
13d	7,8	8,2	8,2	8,1
13e	7,1	7,5	7,7	7,4
14c	10,6	9,6	9,7	10,0
14d	10,0	9,6	9,6	9,7
14e	10,0	10,2	8,4	9,5
15c	7,8	7,3	7,7	7,6
15d	6,4	7,0	7,4	6,9
15e	6,7	7,5	7,7	7,3
16c	13,2	14,1	12,6	13,5
16d	13,5	12,7	14,9	13,6
16e	13,6	12,8	14,1	13,5
17c	12,7	12,2	12,2	12,4
17d	13,2	12,8	13,5	13,2
17e	13,3	13,2	14,4	13,6
18c	11,9	13,0	12,2	12,4
18d	12,3	12,5	13,6	12,8
18e	12,2	12,8	12,4	12,5
19c	12,2	11,8	12,9	12,3
19d	12,1	11,6	13,3	12,3
19e	12,2	12,1	12,7	12,3
20c	14,0	15,4	15,5	15,0
20d	14,0	15,2	15,5	14,9
20e	14,6	15,3	16,2	15,4
21c	12,8	12,0	11,1	12,0
21d	13,2	12,8	12,6	12,9
21e	11,6	12,8	12,2	12,2
22c	11,6	12,1	12,8	12,2
22d	12,1	11,1	12,2	11,8
22e	11,1	12,1	12,6	11,9

IV. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Tabelle 19: Mittelwert, Standartabweichung und Varianz

	Mittelwert	Standard-abweichung	Varianz
Gruppe 1			
Fibrinolyse nativ	in %		
a	25,2	7,3	53,0
b	24,1	6,7	45,3
Fibrinolyse aktiviert	in %		
a	53,4	10,5	110,3
b	52,8	9,7	94,1
Plasminogenkonz.	in mg/dl		
a	12,0	3,9	15,3
b	11,7	3,8	14,3
AT-III-Konz.	in IU/ml		
a	10,8	1,9	3,7
b	10,5	2,0	4,1
Gruppe 2			
Fibrinolyse nativ	in %		
c	25,3	8,8	77,4
d	26,7	8,5	73,0
e	26,1	7,9	62,6
Fibrinolyse aktiviert	in %		
c	58,4	8,9	79,2
d	57,9	8,4	70,6
e	58,1	9,8	95,2
Plasminogenkonz.	in mg/dl		
c	13,5	3,4	11,8
d	13,6	3,7	13,9
e	13,2	3,6	13,1
AT-III-Konz.	in IU/ml		
c	11,4	2,2	4,9
d	11,5	2,4	5,9
e	11,3	2,7	6,9

Wilcoxon - Test für gepaarte Meßwerte

Es soll überprüft werden, ob eine signifikante Veränderung bei den Fibrinolysequoten vorliegt. Da ihre Verteilung nicht bekannt ist, und es sich höchstwahrscheinlich nicht um eine de Moivre Verteilung handelt, wurde der verteilungsfreie Wilcoxon - Test gewählt. Bei ihm werden Differenzen gebildet zwischen den entsprechenden Quoten vor und nach Kompression, bzw. Heparingabe, diese nach ihrer absoluten Größe geordnet, und eine Rangtransformation durchgeführt. Die Ränge der Differenzen mit dem selben Vorzeichen werden addiert und die kleinere Summe als Prüfmaß T verwendet. Bei Fallzahlen ab n=25, wie bei unserer Untersuchung, wird die Standardnormalverteilung als Prüfverteilung genommen und ein Prüfmaß K berechnet (Formeln siehe 45).
Eine signifikante Änderung bei einem Signifikanzniveau von 5 % besteht wenn gilt: $K < -1,96$ oder $K > 1,96$;

Tabelle 18 : Prüfmaße K

Gruppe 1		Gruppe 2	
Gepaarte Meßwerte	K	Gepaarte Meßwerte	K
nativ: a und b	-0,97	nativ: c und d	-1,21
		d und e	-0,23
		c und e	-0,54
aktiv: a und b	-1,70	aktiv: c und d	-0,17
		d und e	-1,49
		c und e	-0,42

Es ergaben sich in keinem Fall signifikante Unterschiede bei einem Signifikazniveau von 5 % .

V. DISKUSSION

Die relativ starke intraindividuelle Streuung der Lysefähigkeit der nativen Plasmen steht in Übereinstimmung mit einer Untersuchung von HARENBERG et al. (38). Es müssen aber zwei Störfaktoren berücksichtigt werden, die auch für das Phänomen, daß sich häufig die Lysequoten bei einzelnen Patienten an verschiedenen Tagen vor und nach Kompression bzw. Heparingabe gegensinnig veränderten,eine Rolle spielen könnten:

1) Die Patienten waren aufgrund ihrer Erkrankung unterschiedlich mobil, auch der einzelne Patient von Tag zu Tag. Die fibrinolytische Antwort auf Venenokklusion kann erwiesenermaßen durch körperliches Training erhöht werden (74). Inwieweit dies auf die sequentielle intermittierende Kompression übertragbar ist, steht nicht fest. Es ist jedoch denkbar, daß gerade körperliche Aktivitäten direkt vor der Kompression einen Effekt haben.

2) Aus technischen Gründen mußte die Kompression in der Mittagszeit durchgeführt werden, weshalb die Patienten ihr Mittagessen zum Teil vor, während oder nach der Kompression bzw. den Blutentnahmen bekamen.

In diesem Zusammenhang ist wichtig, daß die Untersuchung im Klinikalltag durchgeführt werden sollte, ohne die tägliche Routine zu beeinflussen. Die Patienten selbst empfanden die Kompression als angenehm und nicht störend.

Die Tabelle 4 mit den Patientendaten zeigt bei den Patienten Nr. 2, 10, 11, 14 und 17 in der Anamnese einen Alkoholabusus mit zum Teil stark erhöhten Leberwerten. Die Fibrinolysequoten der nativen und aktivierten Plasmen waren in diesen Fällen nicht außergewöhnlich hoch oder niedrig, ebenso die Plasminogenkonzentrationen, außer bei Patient Nr. 2, und die AT III-Konzentrationen. Bei Patient Nr. 2 war die Plasminogenkonzentration mit 18 mg/dl im oberen Drittel des Meßbereichs. Diese Werte

lassen vermuten, daß in keinem Fall die Leberschädigung so schwer war, daß es zu einer starken Beeinflußung der Fibrinolyseaktivität kam. Bei schwerer Leberschädigung werden häufig erhöhte Fibrinolysewerte gefunden (6). Als Ursache dafür werden sowohl ein verminderter hepatischer Abbau von Aktivatoren, als auch die verminderte Bildung von Inhibitoren diskutiert (6).

Wie schon auf Seite 52 erwähnt, wurden bei Patient Nr. 9 und 15 abnorm niedrige Plasminogenkonzentrationen gemessen. Interessanterweise waren die dazugehörigen Lysequoten im Normalbereich. Die maximale Aktivierbarkeit war nicht erniedrigt. Außerdem zeigten die Patienten keine Auffälligkeiten in ihrer Anamnese oder während der Behandlung in der Klinik. Offensichtlich reichte der niedrige Plasminogenspiegel für ein funktionstüchtiges fibrinolytisches System aus. Ähnliche Erfahrungen wurden bei der therapeutischen Anwendung von Streptokinase gemacht, wobei der Plasminogenspiegel durch Verbrauch absank und die maximale Aktivierbarkeit im Normbereich blieb (70).

Die intermittierende Kompression von Venen ist ein relativ neues Konzept in der Thromboseprophylaxe. Man vermutet bei ihrer Anwendung 2 nützliche Effekte:

1) Die Erhöhung der Fließgeschwindigkeit des Venenblutes und eine eventuelle Ausschwemmung von Mikrothromben.

2) Die Erhöhung der fibrinolytischen Aktivität durch Abgabe von Gefäßwandaktivator, wie sie bei Venenokklusion bewiesen wurde (68, 75, 64, 20, 3, 42).

Bei der Entwicklung der intermittierenden, sequentiellen Kompression wollte man vor allem den ersten Effekt verstärken.
Es gelang MÜHE et al. (61) mit einem maximalen Druck von 90 mm Hg und einer täglichen 3-maligen Applikation von 10 Kompressionszyklen die postoperative Thromboserate zu senken. Er vermutet, daß außer der Erhöhung der Fließ-

geschwindigkeit möglicherweise ein mechanisches Auspressen von Kleinstthromben eine Rolle spielt.
Die Frage ist nun, ob es dabei auch zu einer Fibrinolyseaktivierung kommt.
Bei unserer Untersuchung mit einem Gerät aus derselben Baureihe konnten wir bei gleichen Drucken und nach durchschnittlich 12,5 Kompressionszyklen keinen signifikanten Fibrinolyseanstieg nachweisen. Während der Untersuchung traten bei keinem der beteiligten Patienten thromboembolische Komplikationen auf.
KNIGHT und DAWSON (48) erreichten durch eine über 24 Stunden lange intermittierende Kompression der Armvenen mit einem Druck von 50 mm Hg, und ALLENBY et al. (2) durch eine über 48 Stunden lange Kompression der Beinvenen eine Zunahme der fibrinolytischen Aktivität.
Dies läßt vermuten, daß bei unserer Untersuchung die Anwendungsdauer mit 15 Minuten zu gering war, um einen Effekt hervorzurufen. Allerdings sind bei stunden- oder tagelanger Anwendung andere, vielleicht durch Gewebsverletzung ausgelöste Prozesse denkbar.
Außerdem ist der Zeitaufwand in der Klinikroutine nur schwer realisierbar.
Andererseits muß auch eine Verlängerung der Zeitdauer über die der maximale Druck aufrechterhalten wird, diskutiert werden. Dafür spricht, daß bei lokaler Ischämie, wie sie bei Operationen mit Tourniquet auftritt, die Fibrinolyseaktivität steigt (50).

Der Effekt des Heparins auf das fibrinolytische System wurde bereits auf Seite 16 und 17 diskutiert.
Für unsere Untersuchung, die weder 4 Stunden nach Gabe von 5000 I.E. Heparin s.c. alleine,noch in Kombination mit Kompression eine signifikante Fibrinolyse-Steigerung ergab, scheinen vor allem drei Punkte wichtig zu sein:

1) Heparin wirkt bereits in einem relativ niedrigem Konzentrationsbereich aktivierend auf die Fibrinolyse (57).

2) Bei i.v. Gabe von 2400 I.E. Heparin trat der maximale Effekt bereits nach 20 - 30 Minuten auf, die Ausgangswerte waren nach spätestens 120 Minuten wieder erreicht (33).

3) Bei subkutaner Gabe von Heparin ist seine Verteilung und der Konzentrationsspiegel schlecht kontrollierbar.

Möglicherweise ist eine eventuelle Fibrinolysesteigerung durch 5000 I.E. Heparin s.c. nach 4 Stunden bereits wieder abgeflacht.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel dieser Arbeit war eine experimentelle Untersuchung über die Fibrinolyseaktivierung durch intermittierende, sequentielle Kompression der Beinvenen oder durch "low dose" Heparingabe oder die Kombination von beidem.
Die Kompression wurde mit einem automatischen Gerät (Fa. Kendall) über 15 Minuten, bei einem maximalen Druck von 90 mm Hg, bei Gruppe 1 mit 11 Versuchspersonen durchgeführt. Bei einer zweiten Gruppe mit ebenfalls 11 Versuchspersonen wurde 4 Stunden vor der Kompression 5000 I.E. Heparin subcutan gegeben. Die Versuchspersonen waren Patienten der Chirurgischen Universitätspoliklinik.

Aus den vor und nach der Kompression bzw. der Heparingabe durch Venenpunktion gewonnenen Blutproben bestimmten wir mit der Standardfibrinpapier-Lysebestimmung nach GOOSSENS die Lysequoten. Zur Interpretation von Einzelergebnissen wurde außerdem die maximale Lyseaktivität, ihr Plasminogen- und Antithrombin-III-Gehalt ermittelt.
Weder bei Gruppe 1 mit der alleinigen Kompression, noch bei der Gruppe 2 mit Heparingabe und nach 4 Stunden anschließender Kompression, zeigten sich signifikante Unterschiede in den Fibrinolysequoten.
Bei keinem der beteiligten Patienten traten während der Untersuchung tromboembolische Komplikationen auf.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Aberg, M.; Nilson, I. M.:
Fibrinolytic activity of the veinwall.
Br. J. Surg. Vol. 65, 1978

2. Allenby, F.; Boardman, L.; Pflug, J. J.;
Càlnan, J. S.:
Effects of external pneumatic intermittent compression on fibrinolysis in man.
Lancet, p. 1412, Dec. 1973

3. Amery, A.; Vermylen, J.; Maes, H.; Verstreate, M.:
Enhancing the fibrinolytic human blood by occlusion of blood vessels.
Thromb. Diath. Haemorrh., 7, 70, 1962

4. Aoki, N.; von Kaulla, K. N.:
Human serum plasminogen activator: Its distinction from antiplasmin.
Am. J. Physiol., 120, 1137, 1971

5. Aoki, N.; von Kaulla, K. N.:
Dissimilarity of human vascular plasminogen activator and human urokinase.
J. Lab. Clin. Med., 78, 354, 1971

6. Arnman, R.; Gyzander, E.; Hedner, U.; Olson, R.;
Teger-Nilsson, A. C.:
Inhibitors to fibrinolysis in liver diseases.
Hepato. Gastroenterology, 27, 254, 1980

7. Astrup, T.:
The hemostatic balance. Aus: The role of the fibrinolytic system.
Thromb. Diath. Haemorrh., 2, 347, 1958

8. Astrup, T.:
Fibrinolysis in the organism.
Blood 11, 781, 1956

9. Astrup, T.:
Cellular and humoralfibrinolyses. Twenty-third annual symposium on blood -Fibrinolytic system: Physiologic and molecular aspects. (abstr.)
Detroit, 1975

10. Astrup, T.:

Tissue activator of plasminogen.
Fed. Proc. 25, 42, 1966

11. Ball, A. P.; Day, E. D.:

Immunological identification of two urokinases.
Thromb. Diath. Haemorrh. 24, 475, 1970

12. Barlow, G. H.:

Pharmacology of fibrinolytic agents.
Prog. Cardiovasc. Dis. 21, 315, 1979

13. Becker, J.:

Fibrinolytic activity of the blood and its reaction to postoperative venous thrombosis of the lower limbs.
Acta Chir. Scand. 138, 787, 1972

14. Behring Werke AG, Informationsbroschüre zur Nephelometrie

15. Bernik, M. B.; Kwaan, H. C.:

Plasminogen activator activity in cultures from human tissues, an immunological and histochemical study.
J. Clin. Invest. 48, 1740, 1969

16. Bernik, M. B.; Kwaan, H. C.:

Inhibitors of fibrinolysis in human tissue in culture.
Am. J. Physiol. 221, 916, 1971

17. Brockway, W. J.; Castellino, F. J.:

Measurement of the binding of antifibrinolytic amino acids to various plasminogens.
Arch. Biochem. 151, 194, 1972

18. Castellino, F. J.; Violand, B. N.:

Mechanism of the urokinase-catalized activation of human plasminogen.
J. Biol. Chem. 251, 3906, 1976

19. Castellino, F. J.; Violand, B. N.:

The fibrinolysis - basic considerations.
Prog. Cardiovasc. Dis. 21, 241, 1979

20. Clarke, C. L.; Orandi, A.; Cliffton, E. E.:
Induction of fibrinolysis by venous obstruction.
Angiology Vol. 11, Oct. 1960

21. Copley, A. L.:
Effect capillarique de la fibrinolyse.
Arch. Int. Pharmacodynam. 99, 426, 1954

22. Davidson, J. F.; Walter, I. D.:
Synthetic fibrinolytic agents.
Prog. Cardiovasc. Dis. 21, 377, 1979

23. Deutsch, D. G.; Merk, E. T.:
Plasminogen: purification from human plasma by affinity chromatography.
Science 170, 1095, 1970

24. von Doeschel, W.:
Isolierung einer dritten humanen Urokinase.
Wien. klin. Wschr. 87, 282, 1975

25. Eiber, H.B.; Danishefsky, J.:
Arch. Int. Med. 102, 189, 1958
zitiert nach Halse 36

26. Ekert, H.; Friedlander, J.; Hardisty, R. M.:
The role of the platelets in fibrinolysis: Studies on the plasminogen activator and antiplasmin activity of platelets.
Br. J. Hem. 18, 575, 1970

27. Fantl, P.; Simon, S. E.:
Fibrinolysis following electrically induced convulsions.
Aust. J. Exp. Biol. 26, 521, 1948

28. Fearnley, G. R.:
Fibrinolysis.
Edward Arnold (Publishers) Ltd. 1965

29. Fearnley, G.R.:
Fibrinolysis by absorption.
Nature 172, 544, 1933

30. Fearnley, G. R.; Chakrabarti, R., Vincent, C. T.:
Effect of the sulfylureas on fibrinolysis.
Lancet 2, 262, 1960

31. Gaffney, P. J.; Brasher, M.:

Submit structure of the plasmin induces degradation products of crosslinked fibrin.
Biochem. Biophis. acta 295, 308, 1973

32. Goossens, N.:

Standartisierte Fibrinolysebestimmung.
Med. Welt 21, 1826, 1970

33. Goossens, N.:

Über Fibrinolyseaktivierung in vitro und in vivo durch Nikotinsäure, Heparin und deren Mischungen.
Med. Welt 14, 899, 1967

34. Goossens, N.:

Halbautomatische Fibrinolysebestimmung mit dem Standartfibrinpapier.
(Vortrag auf der Tagung der DAB in Essen am 25. 2. 1977)

35. Halse, T. H.:

Aktivierung der Fibrinolyse und Thrombolyse durch Polysaccharidschwefelsäureester (Heparin, Heparinoide).
Sonderdurck aus Arzeneimittelforschung 12, 574, 1962

36. Halse, T. H.:

Enzymologie der spontanen und therapeutisch induzierten Fibrinolyse.
Sonderdruck aus: Zschr. f. Vitamin- und Hormonforschung Band 11, 1960

37. Halse, T. H.:

Polyelectrolytes as activators of fibrinolysis and thrombolysis.
Sangre 19, 119, 1964

38. Harenberg, J.; Walter, E.; Weber, E.:

Die intraindividuelle Streuung der fibrinolytischen Aktivität bei Probanden.
Klin. Wschr. 56, 445, 1978

39. Hedner, U.:

Studies on an inhibitor of plasminogen activation in human serum.
Thromb. Diath. Haemorrh. 30, 414, 1973

40. Highsmith, R. T.; Kline, D. L.:
Kidney, primary source of plasminogen after acute depletion in the cat.
Science 174, 141, 1971

41. Hocking, E. D.; Chakrabarti, R.; Evans, J. et al.:
Effect of diguanides and atromid on fibrinolysis.
Atheroscler. Res. 7, 121, 1967

42. Holemans, R.:
Increase in fibrinolytic activity by venous occlusion.
J. Appl. Physiol. 18, 1123, (Supp. 12, 1) 1963

43. Iatridis, I. G.; Iatridis, P. G.; Ferguson, I. H.:
The role of HF (factor XII) in the pathogenesis of the thrombolytic state induced by venous occlusion.
Thromb. Diath. Haemorrh. 16, 207, 1966

44. Isacson, J.; Nilson, I. M.:
Antithrombotic effect of a combined phenformin-ethyloestrenol medication. In: von Kaulla, K. N.; Davidson, J. S.; (eds): Synthetic fibrinolytic agents
Thomas, C. L.;
Springfield, III., 1975

45. Immich, H.:
Medizinische Statistik.
F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart - New York, 1982

46. Jung, E. G.; Duckert, F:
Wirkung von Plasmin auf die Gerinnungsfaktoren.
Schweiz. Med. Wschr. Nr. 44, 1960

47. Kluft, C.:
Levels of plasminogen activators in human plasma: New methods to study the intrinsic and extrinsic activators. In: Davidson, J. F.; Rowan, R. M.; Samana, M. M. et al. (eds.) Progress in chemical fibrinolysis and thrombolysis.
Vol. 3, p. 141, 1978

48. Knight, M. T. N.; Dawson, R.:
Effect of intermittent compression of the arms on deep venous thrombosis in the legs.
Lancet, p. 1265, Dec. 1976

49. Koller, F.:

Fibrinolyse.
Schweiz. Med. Wschr. Nr. 44, 1960

50. Kristen, B. F. X.:

Untersuchung der fibrinolytischen Aktivität nach Operationen mit Tourniquet.
Med. Diss. München 1981

51. Kwaan, H. C.; Lo, R.; Mc Fadzean, A. J. S.:

On the lysis of thrombosis, experimentally produced in veins.
Br. J. Haematol. 4, 51, 1958

52. Kwaan, H. C.; Lo, R.; Mc Fadzean, A. J. S.:

The production of plasma fibrinolytic activity in vivo by serotonin (α- hydroxy tryplamin) creatinsulfate.
Clin. Sci. 16, 225, 1957

53. Kwaan, H. C.; Mc Fadzean, A. J. S.:

On plasma fibrinolytic activity induced by ischemia.
Cli. Sci. 15, 245, 1956

54. Lackner, H.; Javid, J. P.:

Experimental haemostasis in normal dogs with congenital disorders of blood coagulation.
Am. Clin. Pathol. 60, 175, 1973
zitiert nach: Davidson, J. F.; Walker, I. D.; 22

55. Markwardt, F.; Klöckling, H. P.:

Heparin induced release of plasminogen activator.
Haemostasis 6, 330, 1977

56. Mannucci, P. M.:

Progress in fibrinolysis.
Ric. Clin. Lab. 9, 223, 1979

57. Mattis, P.; Bauer, K.; Rockstoh, Ch.:

Neue Med. Welt Nr. 46, 1959
zitiert nach: Halse, T. H.; 36

58. Miller, L. L.; Bale, W. F.:

Synthesis of all plasma protein fractions except gamma globulins by the liver.
J. Exp. Med. 99, 125, 1954

59. Moroi, M.; Aoki, N.:

Isolation and characterisation of α-plasmin inhibitor from human plasma. A novel proteinase inhibitor, which inhibits activator-induced clot lysis.
J. Biol. Chem. 251, 59, 1976

60. Moroi, M.; Aoki, N.:

Inhibition of plasminogen binding to fibrin by α-plasmin inhibitor.
Thromb. Rs. 10, 851, 1977

61. Mühe, E.:

Ein neuer Weg in der Thromboseprophylaxe.
Deutsche Med. Wschr. 28, 1092, 1982

62. Müllertz, S.:

The fibrinolytic system.
Scand. J. Haematol. (Suppl.) 34, 154, 1979

63. Murano, G.:

The "Hageman Connection": Interrelationship of blood coagulation, fibrinolysis, kinin generation and complement activation.
Am. J. Hem. 4, 409, 1978

64. Nilsson, I. M.; Robertson, B.:

Effect of venous occlusion on coagulation and fibinolytic components in normal subjects.
Thromb. Diath. Haemorrh. 20, 297, 1968

65. Nilssson, I. M.:

Phenformin and ethyloestrenol in recurrent venous thrombosis. In: Davidson, J. F.; Samma, M. M.; Desnoyers, P. C.; (eds.) Progress in chemical fibrinolysis and thrombolysis.
Vol. 1, p. 1; 1975, Raven Press New York

66. Ogston, D.; Bennet, B.; Herbert, R. J. et al.:

The inhibition of urokinase by -macroglobulin.
Clin. Sci. 44, 73, 1973

67. Pandolfi, M.; Nilsson, I. M.; Robertson, B.; Isacson, S.:

Fibrinolytic activity of human veins.
Lancet 2, 127, 1967

68. Rath, H.; Goossens , N.:

Postoperatives Verhalten der Fibrinolyse mit und ohne Tourniquet.
Sonderdruck aus: Mikrozirkulation und Prostaglandinstoffwechsel. Interaktion von Blutgerinnung und Fibrinolyse mit anderen proteolytischen Enzymsystemen. Neues über Fibrinogen, Fibrin und Fibrinkleber.
F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart - New York, 1982

69. Rath, H.:

Möglichkeiten der perioperativen Thromboseprophylaxe.
Vortrag München 1982

70. Rath, H.; Goossens, N.; Hess, J.:

Laborchemische Kontrollen bei systemischer und lokaler Fibrinolysetherapie.
Trübestein, G.; Etzel, F.: (Herausgeber)
F. K. Schattauer-Verlag, Stuttgart - New York, 1983

71. de Renzo, E. C.; Boggiano, B.; Barg, W. F. et al.:

Interaction of streptokinase and human plasminogen.
J. Biol. Chem. 242, 2428, 1967

72. Robbins, K. C.:

The human plasma fibrinolytic system.
Regulation and control.
Mol. Cel. Biochem. 20, 149, 1978

73. Robertson, B. R.; Pandolfi, M.; Nilsson, I. M.:

Fibrinolytic capacity in healthy volunteers at different ages as studied by standartized venous occlusion of arms and legs.
Acta Med. Scand. 191, 199, 1972

74. Sanders Williams, R.; Loque, E. E.; Lewis, J. L.; Barton, T.; Stead, N. W.; Wallace, A. G.; Pizzo, S. W.:

Physical conditioning aguments the fibrinolytic response to venous occlusion in healthy adults.
N. Engl. J. Med. 18, 1980

75. Sherry, S.:

Fibrinolysis. In: Williams (ed.): Hematolgy.
2nd edition; p. 1291, New York 1975

76. Shulman, S.; Alkjaersig, N.; Sherry, S.:
Physiochemical studies on human plasminogen and plasmin.
J. Biol. Chem. 233, 91, 1958

77. Stormorken, H.:
Interrelations between the fibrinolytic and the kallikrein-kinin system.
Scand. J. Haematol. (Supl.) 34, 24, 1979

78. Summaria, L., Ling, C. M.; Groskopf, W. R. et al.;
The active site of the bovine plasminogen activator.
J. Biol. Chem. 243, 144, 1968

79. Thorson, S.:
Differences in the binding of fibrin of native plasminogen modified by proteolytic degradation. Influence of omega-acids.
Biochem. Biophys. Acta 393, 55, 1975

80. Thorsen, S.; Glas-Greenwalt, P.; Astrup, T.:
Difference in the binding to fibrin of urokinase and tissue plasminogen activator.
Thromb. Diath. Haemorrh. 28, 65, 1972

81. Uszynsky, M.; Abildgaard, U.:
Separation and characterisation of two fibrinolytic inhibitors from human placenta.
Throbm. Diath. Haemorrh. 25, 580, 1971

82. Vermylen, J. G.:; Chamone, D. A.:
The role of the fibrinolytic system in thromboembolism.
Prog. Cardiovasc. Dis. 21, 255, 1979

83. Voigt, H. W.:
Klärung lipämischer Seren durch neues Verfahren.
Laboratoriumsblätter der Behring-Werke AG, 27, 168, 197

84. Wallen, P.; Wiman, B.:
On the generation of intermediate plasminogen and its significance for the activation. In: Reich, E.; Rifkind, D. B.; Shaw, E.; (Eds.): Proteases and biological control.
Cold Spring - Harbour Laboratory p. 231, New York 1975

85. Weiner, M.; Radisch, W.; Steele, J. M.:
Occurance of fibrinolytic activity following administration of nicotinic acid.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 98, 755, 1958

86. Wiman, B.; Collen, D.:
Purification and characterisation of human plasmin inhibitor in plasma.
Eur. J. Biochem. 78, 19, 1977

87. Wiman, B.; Wallen, B.:
Activation of human plasminogen by an insoluble derivate of urokinase. Structure changes of plasminogen in the course of activation to plasmin and demonstration of a possible intermediate compound.
Eur. J. Biochem. 36, 25, 1973

88. Wolfe, J. H. N.; Moreland, M.; Browse, N. L.:
The fibrinolytic activity of varicose veins.
Br. J. Surg. Vol. 66, 1979

L E B E N S L A U F

Am 22. 08. 1956 wurde ich als Sohn von Alfons und Lina Gessendorfer in Regensburg geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule und eines mathematisch - naturwissenschaftlichen Gymnasiums in Regensburg legte ich dort im Sommer 1977 das Abitur ab.

Vom Juli 1977 bis Mai 1978 leistete ich als Sanitätssoldat der Bundeswehr einen Teil meines Grundwehrdienstes ab.

Das Medizinstudium begann ich im Mai 1978 an der Johann Wolfgang von Goethe Universität in Frankfurt.
Nach der ärztlichen Vorprüfung im Frühjahr 1980 wechselte ich an die Ludwig - Maximilians - Universität zu München. Hier absolvierte ich im Frühjahr 1981 den ersten Teil der ärztlichen Prüfung und im Frühjahr 1983 den zweiten Teil der ärztlichen Prüfung.

Vom Winter 1981 bis Herbst 1982 arbeitete ich im hämostasiologischen Labor der Medizinischen Poliklinik der Universität München an dieser Dissertation.